



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشهيد حمّة لخضر الوادي

Université d'Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED-

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : biochimie appliquée

THEME

Synthèse verte de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) à partir d'une plante médicinale et évaluation de leurs activités anti-biofilm et anti-inflammatoire

Présenté Par :

M^{eme} Benrazkallah Madina

M^{eme} Moussaoui Afaf

discuté sur :28/05/2025

Devant le jury:

Président Dr. SAADI Hamza
Examineur Dr. TOUATI Said
Promotrice Dr. HOUMRI Nawal
Co Promotrice Dr. AZZI Manel

Université d'El Oued.
Université d'El Oued.
Université d'El Oued.
Université d'El Oued.

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Avant tout, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Dieu Tout-Puissant pour nous avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour surmonter les moments les plus difficiles et mener à bien ce travail de recherche.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre promotrice, **Dr Houmri Nawal**, pour la direction de ce mémoire, la qualité de son encadrement, sa patience, sa rigueur scientifique et sa disponibilité constante tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à **Dr Azzi Manel**, notre co-promotrice pour sa disponibilité, ses conseils avisés, son aide précieuse et son soutien constant tout au long de la préparation de ce mémoire.

Nous remercions sincèrement le président du jury pour nous avoir fait l'honneur de présider cette soutenance.

Nos remerciements vont également aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail et consacré de leur temps à son examen.

Nous adressons nos sincères remerciements au **Pr Mahboub Mohamed Sadok**, chef du laboratoire LEVRES, pour nous avoir accueillis au sein de son équipe afin de réaliser la caractérisation de notre produit par diffraction des rayons X (DRX). Nous exprimons également notre profonde gratitude au **Dr Rihia Ghani** pour son aide précieuse et son accompagnement technique durant cette étape essentielle de notre travail.

Nous exprimons également notre profonde gratitude à l'équipe technique des laboratoires de la Faculté de Biologie de l'Université Hamma Lakhdar pour leur précieuse aide et leur assistance tout au long des travaux pratiques, en particulier **Mlle Sana, Mme Selma, M. Soultane**, et tout spécialement **M. Khenoufa Omar** pour sa disponibilité constante. Nos remerciements vont aussi à Mlle Jihad du laboratoire Al-Majd pour sa collaboration et son soutien durant la réalisation de notre étude dans le laboratoire.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à l'ensemble des enseignants qui, tout au long de notre parcours universitaire, nous ont transmis leur savoir et leurs compétences, contribuant ainsi à l'acquisition des connaissances nécessaires à la réalisation de ce mémoire.

Enfin, nous adressons nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire par leur aide, leurs encouragements ou leur soutien moral, notamment **Dr Hadri Nassima, M^{elle} Kribaa Hajer et M^{elle} Laghdamsi Jihan**.

Dédicace

Toutes les louanges sont dues à Dieu, et je le remercie pour le succès qu'il nous a accordé et pour la patience qu'il nous a inspirée face aux difficultés rencontrées lors de l'accomplissement de ce modeste travail.

Je dédie cette recherche à chaque étudiant en sciences qui cherche à acquérir des connaissances et à atteindre son équilibre scientifique et culturel.

À celle qui m'a soutenu par ses prières et ses supplications, à celle qui a partagé mes joies et mes peines, à la source de tendresse et de bonté, au plus beau sourire de ma vie, ma chère mère.

Aux âmes pures et innocentes de mon père bien-aimé, de mon grand-père et de ma grand-mère chéris, et de ma sœur Wahiba, que Dieu leur fasse miséricorde.

Et à mon cher mari qui m'a soutenue tout au long de mon parcours universitaire et m'a apporté un soutien sans limite, et qui a été la principale raison de ma réussite.

Et à toute ma famille, mes frères et sœurs.

À vous tous, je dédie la source de mes lettres et le parfum de mes mots.

AFAF

Dédicace

À mes chers parents, qui ont été les premiers à me guider et à m'enseigner depuis mon enfance. Que Dieu les récompense pour tous leurs sacrifices.

À toute ma famille, chacun en son nom, en particulier mes frères et sœurs, surtout mon cher frère Mohamed.

À mon mari bien-aimé, mon pilier dans la vie, pour son soutien constant tout au long de ce parcours.

À mes enfants, lumière de ma vie, je leur souhaite réussite et excellence dans leurs études et leur avenir.

À ma fille El-Batoul, perle précieuse de mon cœur, je lui souhaite plein de succès dans son examen du baccalauréat.

À ma compagne de route et fidèle amie, Afaf, merci pour ta présence, ton aide et ton soutien sincère.

À mon enseignante bien-aimée, Madame Dhabia, femme exceptionnelle, mère de mes enfants, leur éducatrice et leur guide — que Dieu lui accorde une longue vie pleine de santé, de paix et d'amour

Madina

Résumé

Cette étude rapporte la réussite de la synthèse verte de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) à l'aide d'un extrait aqueux d'une plante médicinale. Les nanoparticules biogéniques de ZnO ont été calcinées à 400°C une partie de ce nano a été enrobée de Cefazoline (antibiotique). Leurs dimensions nanométriques ont été confirmées par diffraction des rayons X (DRX), qui a confirmé une structure hexagonale pour les deux nanoparticules synthétisées. L'évaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) a été réalisée en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI) à l'égard de bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Parallèlement, l'activité anti-biofilm a été étudiée selon la méthode de microplaque à 96 puits contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les ZnO NPs ont montré une efficacité antibactérienne notable, L'activité anti-biofilm la plus marquée a été observée en particulier contre *P. aeruginosa* et *S. aureus*. Notamment, les nanoparticules de ZnO enrobées d'un antibiotique ont démontré une activité anti-biofilm renforcée, dépassant également les 90 % d'inhibition pour l'ensemble des souches bactériennes testées. Ces résultats suggèrent une synergie prometteuse entre les nanoparticules et les agents antimicrobiens conventionnels. L'étude de l'activité anti-inflammatoire, basée sur la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) en utilisant des concentrations variées des nanoparticules ZnO synthétisées. Cette méthode a montré un grand pourcentage d'inhibition BSA une forte activité anti-inflammatoire. Ainsi, les résultats obtenus démontrent que nos nanoparticules possèdent une activité antibactérienne et anti-inflammatoire remarquablement efficace, ouvrant la voie à des recherches approfondies en vue de leur valorisation potentielle dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire.

Mots clés : Plante médicinale, nanoparticules d'oxyde de zinc, nanoparticules enrobées d'antibiotique, activité anti-inflammatoire, activité anti- biofilm.

المخلص:

قمنا خلال هذه الدراسة بعملية التصنيع الاخضر لنانو اكسيد الزنك مستخدمين في ذلك مستخلص مائي لنبات طبي واتبنا عملية التصنيع بعملية حرق تحت درجة حرارة 400 درجة مئوية ثم غلف جزء منه بمضاد حيوي سيفازولين ثم تم اخضاع جسيمات النانو لحيود الأشعة السينية وقد اثبتت وجود بنيه سداسيه لهذه الجسيمات المصنعة. أجرينا تقييما للنشاط المضاد للبكتيريا لنانو اكسيد الزنك ضد البكتيريا موجبه وسالبه الغرام باستخدام اللوحة الدقيقة ذات 96 بئرا ضد الاشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والعصوية الرقيقة وقد اثبتت جسيمات النانو فاعليه ملحوظه. وكان النشاط المضاد للأغشية الحيوية الاكثر وضوحا. ومن الجدير بالذكر ان جسيمات اكسيد النانو المغلفة بالمضاد الحيوي اظهرت نشاطا معززا مضادا للأغشية الحيوية حيث تجاوزت نسبة التثبيط 90% لجميع السلالات البكتيرية التي تم اختبارها وتشير هذه النتائج الى تأزر قوي بين الجسيمات النانوية والمضاد الحيوي. ومن اجل اختبار النشاط المضاد للالتهاب قمنا بإخضاع جسيمات النانو بتراكيز مختلفة لاختبار الذي يعتمد على مبدا تثبيط تغيير طبيعة البروتين عند تعرضه للحرارة واثبتت هذه الدراسة فاعليه كبيره لجسيمات النانو. وبالتالي، فإن النتائج التي تم الحصول عليها تثبت أن جزيئاتنا النانوية تمتلك نشاطاً مضاداً للبكتيريا ومضاداً للالتهابات فعلاً بشكل ملحوظ، مما يفتح الطريق أمام إجراء أبحاث متعمقة بهدف استخدامها المحتمل في قطاعي الأدوية والأغذية الزراعية.

الكلمات المفتاحية: نبات طبي، جسيمات أكسيد الزنك النانوية، جسيمات النانو المغلفة بالمضادات الحيوية، النشاط المضاد للالتهابات، النشاط المضاد للأغشية الحيوية.

Abstract

This study reports the successful green synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using an aqueous extract of a medicinal plant. The biogenic ZnO nanoparticles were calcined at 400°C and a portion of these nanoparticles was coated with Cefazolin (antibiotic). Their nanometric dimensions were confirmed by X-ray diffraction (XRD), which confirmed a hexagonal structure for the two synthesized nanoparticles. The evaluation of the antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) was carried out by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) against Gram-positive and Gram-negative bacteria. At the same time, the anti-biofilm activity was studied using the 96-well microplate method against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. ZnO NPs showed notable antibacterial efficacy. The most marked anti-biofilm activity was observed, particularly against *P. aeruginosa* and *S. aureus*. Notably, antibiotic-coated ZnO nanoparticles demonstrated enhanced anti-biofilm activity, also exceeding 90% inhibition for all bacterial strains tested. These results suggest a promising synergy between nanoparticles and conventional antimicrobial agents. The study of anti-inflammatory activity, based on the protein denaturation inhibition (BSA) method using varying concentrations of synthesized ZnO nanoparticles. This method showed a high percentage of BSA inhibition and strong anti-inflammatory activity. Thus, the results obtained demonstrate that our nanoparticles possess remarkably effective antibacterial and anti-inflammatory activity, opening the way to in-depth research with a view to their potential use in the pharmaceutical and agri-food sectors.

Keywords: Medicinal plant, zinc oxide nanoparticles, antibiotic-coated nanoparticles, anti-inflammatory activity, anti-biofilm activity.

Listes des figures

Numéro	Titre	Page
Figure01	Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celle des principales structures	11
Figure02	Types de nanoparticules	12
Figure03	Applications de nanoparticules	15
Figure04	Méthodes utilisées dans la synthèse de NPs	17
Figure05	Processus de synthèse verte de ZnONPs	18
Figure06	Principales classes des antibiotiques	25
Figure07	Protocole de préparation de l'extrait aqueux de la plante étudiée	34
Figure08	Biosynthèse des nanoparticules d'Oxyde de Zinc	38
Figure09	Nanoparticules d'Oxyde de zinc en poudre	39
Figure10	Nanoparticules d'oxyde de zinc après calcination	39
Figure11	Protocole de préparation NP de ZnO enrobées d'antibiotique	40
Figure12	Screening phytochimique d'extrait aqueux de la plante	44
Figure13	Courbe d'activité antioxydante total de la méthode de phosphomolybdene	45
Figure14	Courbe de pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)	45
Figure15	Carte JCPDS N ^o 96-900-4179	46

LISTES DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
TABLEAU01	Mécanisme d'action des familles d'antibiotiques	25
TABLEAU02	Screening phytochimique des composé phytochimique	35
TABLEAU03	Rendement de l'extrait aqueux de la plante étudiée	44

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

AlCl₃: chlorure d'aluminium

BSA : albumine serique Bovine

CE : équivalent de catéchine

DMSO : diméthyle sulfoxyde

DPPH : 2,2 - diphenyle - 1- picryl hydrazyl

DRX : diffraction des rayons X

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

GAE : équivalent acide gallique

HPLC : chromatographie en phase liquide haute performance

IC50: Concentration inhibitrice 50

NaOH : l'hydroxyde de sodium

QE : équivalent de quercétine

TAC: Capacité antioxydant totale

TBS : solution saline tamponnée au Tris

UV-VIS : Ultra-Violet Visible

Zn (CH₃CO₂)₂ : l'acétate de zinc

ZnO NPs : nanoparticules d'oxyde de Zinc

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES ABREVIATIONS	
SOMMAIRE	
Introduction	
PARTIE I Bibliographique	
CHAPITRE I: les plantes médicinales et la phytothérapie	
1. Définition	06
2. Composition métabolite des plantes médicinales	06
2.1. Métabolites primaires des plantes médicinales	06
2.1.1. Les glucides	06
2.1.2. Les acides aminés	06
2.1.3. Les lipides	06
2.1.4. Les acides organiques	07
2.2. Métabolites secondaires des plantes médicinales	07
3. Les principales catégories de métabolites secondaires des plantes médicinales	07
3.1. Composés phénoliques	08
3.2. Alkaloids	08
3.3. Terpenes et terpénoïdes	08
4. Mode de préparation des plantes médicinales	08
4.1. Principales méthodes de préparation	08
5. Application des plantes médicinales (la phytothérapie)	09
CHAPITRE II: les nanoparticules	
1. Définition	11
2. Types des nanoparticules	11
2.1. Nanoparticules organiques	12
2.2. Nanoparticules de carbone	12

2.3.	Nanoparticules inorganiques	12
2.3.1	Nanoparticules métallique	12
2.3.2.	Nanoparticules magnétiques	12
2.3.3.	Nanoparticules de silice	12
2.3.4.	Nanoparticules semi-conducteurs	12
3.	Propriétés des nanoparticules	13
4.	Application des nanoparticules	13
5.	Synthèse de nanoparticules	15
5.3.	Méthodes physiques	16
5.4.	Méthodes chimiques	16
5.5.	Méthodes biologiques	16
6.	La biosynthèse des nanoparticules	17
6.3.	La biosynthèse par les algues	18
6.2.	La biosynthèse par les champignons	19
6.4.	La biosynthèse par les plantes	19
6.4.	La biosynthèse par les bactéries	19
7.	Nanoparticules l'oxyde de Zinc	19
7.3.	Définition	19
7.2.	Application biomédicale des ZnO NPs	20
7.2.1.	Anticancéreuse	20
7.2.2.	Antidiabétique	20
7.2.3.	Anti-inflammatoire	20
7.2.4.	Antibactérienne	20
CHAPITRE III : La résistance aux antibiotiques		
1.	Définition	23
2.	Classification des antibiotiques et mode d'action	23
2.1.	L'effet sur la paroi de la bactérie	23
2.2.	L'effet sur la synthèse des protéines bactériennes	24
2.3.	L'effet sur la synthèse ou réplication bactérienne	24
2.4.	L'effet sur le métabolisme des folates	24
3.	Mode d'action	25
4.	La résistance aux antibiotiques	27

4.1. La résistance naturelle	27
4.2. La résistance acquise aux antibiotiques	27
4.2.1. Par mutation chromosomique	27
4.2.2. Par transfert du matériel génétique exogène	27
5. Les effets thérapeutiques	28
6. Les causes des résistances antibactériennes et solution	29
PARTIE II: PARTIE PRATIQUE	
CHAPITRE I : Matériel et méthodes	
▪ Lieu de l'étude	33
1. Materials	33
1- 1-Matériel végétal	33
1- 2 - Les souches bactériennes utilisées	33
1 -3-Matériels de laboratoire	33
1-4-Appareils de laboratoire	34
1-5-Produits et réactifs	34
2. Méthodes	34
2.1. Préparation des extraits de plante médicinales	34
2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux	34
2.1.2. Évaluation du rendement de l'extrait	35
2.2. Etude phytochimique des extraits	35
2.2.1. Screening phytochimique	35
2-2-2-Analyses quantitatives	36
a. Dosage des phénoliques totaux	36
b. Dosage des flavonoïdes totaux	37
c. Dosage du tanin condensé	37
2.3. Evaluation de l'activité antioxydant	37
2.3.1. Activité de piégeage des radicaux libres DPPH	37
2.3.2. Dosage de la capacité antioxydante totale	38
2.3.3 Dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)	38
2.4. Synthèses des nanoparticules	39

2.4.1. Synthèse des nanoparticules de Zinc	39
2.4.3.Préparation de (ZnO NPs) enrobées d'antibiotique	41
2.4.4 Caractérisation de nanoparticules	42
Diffraction des rayons X (DRX)	42
2.5. Effet de nanoparticules sur la formation du biofilm	42
2.6.Évaluation comparative de l'effet de ZnO NPs et ZnO NPs enrobées d'antibiotique pour l'inhibition de la dénaturation des protéines induite par la chaleur	43
CHAPITRE II: RUSLTATS	
1- Calcule du rendement	45
2-Etude phytochimique de l'extrait	45
2-1– Screening phytochimique	45
2-2 – Analyse quantitatif des extraits	46
a– Estimation des composés phénoliques totaux	44
b– Estimation des flavonoïdes totaux	44
c- Estimation du tanin condensé	44
3– Les tests des activités antioxydants	44
3.1 Activité des radicaux libre DPPH	44
3.2. Dosage de la capacité antioxydante totale	45
3.3. Dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)	45
4.Analyse DRX des échantillons	46
4.1. structure cristalline conservée	
CHAPITRE III: DISCUSSION	
DISCUSSION	49
CONCLUSION	53
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	56
ANNEXES	64



introduction

Introduction

La nanotechnologie peut être définie comme un domaine interdisciplinaire regroupant un ensemble de techniques, de connaissances et de procédés scientifiques permettant l'élaboration, la synthèse, la caractérisation et l'utilisation de matériaux, de structures ou de dispositifs à une échelle extrêmement réduite, généralement comprise entre 1 et 100 nanomètres. À cette échelle, la matière obtient des propriétés physiques, chimiques, biologiques et optiques uniques, souvent très différentes de celles observées à l'échelle macroscopique (**Saini, 2010**).

La biosynthèse des nanoparticules est une méthode nouvelle et écologique pour fabriquer des nanomatériaux. La synthèse verte utilise des organismes vivants comme les plantes, les bactéries, les champignons ou les algues, ou leurs extraits. Ces organismes produisent naturellement des molécules capables de transformer les métaux en nanoparticules tout en les stabilisant (**Iravani, 2011**).

Les plantes contiennent une grande diversité de molécules bioactives, parmi lesquels figurent les flavonoïdes, les phénols, les terpènes, les alcaloïdes, les saponines ou encore les tanins. Ces substances jouent un rôle fondamental dans la synthèse verte des nanoparticules, en facilitant la réduction des ions métalliques en particules nanométriques et en assurant leur stabilisation. De plus, ces composés confèrent aux nanoparticules des propriétés biologiques utiles, notamment antimicrobiennes (**Mittal et al., 2013**).

La phytothérapie occupe une place importante dans les pratiques de santé traditionnelles (**Duraffourd, Lapraz, 2002**). Toutefois, la connaissance de la phytothérapie en Algérie est encore limitée à ce jour, puisque parmi les milliers d'espèces végétales, seules 146 sont répertoriées comme ayant des propriétés médicinales (**Hamel et al., 2018**).

Aujourd'hui, la Problématique de la résistance aux antibiotiques constitue une menace majeure pour la santé mondiale. Ce phénomène se manifeste lorsque des bactéries développent la capacité de résister aux traitements antibiotiques, rendant ainsi certaines infections difficiles, voire impossibles à traiter. L'excès et la mauvaise utilisation des antibiotiques, tant en médecine humaine qu'en agriculture, ont favorisé l'émergence de souches bactériennes multi résistantes (**Ventola, 2015**).

Face à la montée alarmante de la résistance bactérienne, la nanotechnologie s'impose comme une piste prometteuse. En particulier, les nanoparticules métalliques présentent des propriétés antimicrobiennes remarquables. Elles peuvent agir selon divers mécanismes : perturbation de la membrane cellulaire, induction de stress oxydatif par la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), altération des protéines et de l'ADN bactérien (**Rai et al., 2012**). En combinant les avantages des composés naturels issus des plantes et des nanomatériaux, cette approche ouvre la voie à de nouvelles solutions thérapeutiques efficaces. Par ailleurs, les nanoparticules peuvent être utilisées seules ou en synergie avec des antibiotiques, augmentant l'efficacité des traitements et réduisant les doses nécessaires, ce qui limite les effets secondaires et ralentit l'apparition de nouvelles résistances (**Khan et al., 2019**).

La dénaturation des protéines est un phénomène fréquent en situation de stress thermique ou inflammatoire. Lors d'une inflammation, la dénaturation des protéines peut entraîner la libération de médiateurs pro-inflammatoires, aggravant les dommages tissulaires (**Soumbo, 2020**). Des recherches récentes montrent que certaines nanoparticules peuvent stabiliser les protéines comme la BSA face à la chaleur. Ces nanoparticules empêchent l'agrégation des protéines dénaturées, stabilisent leur conformation native et réduisent les signaux inflammatoires associés. (**Soumbo, 2020 ; OUBEKKA, 2012**)

Dans ce cadre, la présente étude vise principalement à évaluer l'efficacité de nanoparticules bio synthétisées à partir de plantes médicinales présentant des propriétés saines et non toxiques pour diminuer l'activité des biofilms et atténuer les processus inflammatoires. Elle a également pour objectif d'analyser l'effet de cette combinaison sur la formation des biofilms bactériens, en utilisant la (BSA) comme agent de stabilisation des nanoparticules.

Pour ce faire, le travail est organisé en deux parties principales :

- La première partie est consacrée à l'aspect théorique. Elle comprend trois chapitres
 1. Le premier chapitre traite des plantes médicinales et de la phytothérapie.
 2. Le deuxième chapitre aborde les nanoparticules.
 3. Le troisième chapitre est consacré à la résistance aux antibiotiques.
- La deuxième partie est expérimentale. Elle présente la méthodologie, les protocoles utilisés, ainsi que les résultats obtenus, leur interprétation et discussion.
- Enfin, le travail se conclut par une conclusion générale et des perspectives pour de futures recherches.

PARTIE I

Synthèse bibliographique



CHAPITRE I

***Les plantes médicinales
et la phytothérapie***

1. Définition :

Les plantes médicinales sont principalement celles qui renferment une ou plusieurs substances actives physiologiquement. Ces plantes ne sont que rarement employées directement, étant souvent associées à la médecine en relation avec des substances pures. Elles servent de matières premières pour l'extraction de leurs principes actifs sous forme pure, ou pour leur utilisation globale en combinaison avec d'autres matériaux. (**Gurib-., 2006**)

D'après l'OMS, il n'y a pas de définition juridique formelle pour une plante médicinale. On peut désigner une plante comme médicinale si elle contient, à l'intérieur de ses parties, un ou plusieurs principes actifs exploitables dans un but thérapeutique. (**Abderaouf, B., 2023**)

On utilise les plantes médicinales pour leurs vertus spécifiques favorables à la santé humaine. Effectivement, elles se présentent sous diverses formes, telles que la décoction, la macération et l'infusion. Il est possible d'utiliser une ou plusieurs parties de la plante, comme la racine, la feuille ou la fleur (**Duterte,Julie M ,2011**). Il s'agit de plantes employées en médecine traditionnelle, dont au moins un segment détient des vertus thérapeutiques. Leur efficacité découle de la présence de composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) actifs (**Sango , R. 2006**)

1. Composition de métabolites des plantes médicinales :

2.1.les métabolites primaires des plantes médicinales :

Les métabolites primaires représentent l'ensemble des composés essentiels au métabolisme de base des plantes. Ils interviennent directement dans les processus physiologiques vitaux tels que la croissance, le développement et la reproduction. Contrairement aux métabolites secondaires, souvent associés aux propriétés pharmacologiques des plantes médicinales, les métabolites primaires sont universels et indispensables à la survie de la plante. Ils comprennent principalement les glucides, les acides aminés, les lipides et les acides organiques (**Taiz et al. 2015**)

2.1.1. Les Glucides :

Résultant directement de la photosynthèse, les glucides constituent une source d'énergie fondamentale pour les plantes. Ils assurent également des fonctions structurales (comme la cellulose) ou de réserve (comme l'amidon). Dans le contexte des plantes médicinales, ils peuvent également interagir avec les métabolites secondaires en influençant leur solubilité ou leur stabilité (**Hopkins, Hüner, 2009**).

2.1.2. Les Acides aminés :

Les acides aminés sont les unités constitutives des protéines végétales. Ils interviennent également comme précurseurs dans la biosynthèse de nombreux métabolites secondaires bioactifs. Par exemple, la phénylalanine est à l'origine de la synthèse des composés phénylpropanoïdes, bien connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (**Taiz et al., 2015**).

2.1.3. Les Lipides :

Les lipides jouent un rôle structural fondamental dans les membranes cellulaires et interviennent dans divers mécanismes de signalisation cellulaire. Certains acides gras insaturés présents dans les

plantes médicinales possèdent en eux-mêmes des propriétés thérapeutiques, notamment anti-inflammatoires ou cardioprotectrices (**Buchanan et al., 2015**).

2.1.4. Les acides organiques :

Les acides organiques comme les acides citrique, malique et oxalique participent à la régulation du pH intracellulaire, à la respiration cellulaire et à la complexation des ions métalliques. Bien que leur rôle soit moins directement lié à l'activité thérapeutique, ils influencent l'équilibre métabolique général de la plante et peuvent moduler la synthèse de composés bioactifs (**Taiz et al., 2015**).

2.2. Métabolites secondaires des plantes médicinales :

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. à côté des métabolites primaires classique (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques), ils ont souvent tendance à accumuler ce qu'on appelle des métabolites secondaires, qui jouent un rôle crucial dans la survie et l'expansion des plantes qui les synthétisent, en tant qu'indicateurs chimiques pour protéger leur plante d'origine contre les herbivores et les agents pathogènes, concurrence entre les végétaux en termes de germination et de croissance. Quelques-uns offrent une défense contre les rayons solaires tandis que d'autres favorisent la dissémination du pollen et des graines (**Allemand, 2005**).

Sur le plan physicochimique, les métabolites secondaires sont des molécules de petite taille (avec un poids moléculaire allant jusqu'à quelques centaines de daltons), dotées d'une structure unique et complexe, et souvent très stables. Si elles sont absorbées par un autre organisme ou délibérément administrées, leur minuscule taille leur permet de contourner la vigilance du système immunitaire et d'atteindre une cible pharmacologique spécifique sur laquelle elles auront la capacité de moduler l'activité. Plusieurs de ces métabolites secondaires sont efficaces à des doses infinitésimales et ont largement diversifié la gamme de traitements disponibles, y compris ceux dérivés des plantes (digitales pour le traitement de l'insuffisance cardiaque ; morphine pour les douleurs sévères ; quinine contre le paludisme) ou provenant des champignons (pénicillines/céphalosporines en tant qu'antibiotiques ; statines pour la réduction du cholestérol ; ciclosporine pour éviter les rejets de greffe) (**Pierre, 2015**).

3. Les principales catégories de métabolites secondaires des plantes médicinales :

Contrairement aux métabolites primaires, essentiels à la croissance et au développement de la plante, les métabolites secondaires ne sont pas directement impliqués dans les fonctions vitales, mais jouent un rôle crucial dans l'adaptation de la plante à son environnement. Ils interviennent notamment dans la défense contre les herbivores et les pathogènes, l'attraction des pollinisateurs, ou encore la protection contre divers stress abiotiques. Dans le cas des plantes médicinales, ces composés sont particulièrement recherchés pour leurs propriétés pharmacologiques, qui en font des agents thérapeutiques naturels d'intérêt. Les principales classes comprennent les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpènes, les tanins, et les saponines, entre autres (**Bruneton, 2009 ; Wink, 2010**).

On distingue trois grandes classes principales : les phénols, les alcaloïdes et les terpènes.

3.1. Composés phénoliques :

Les phénols ou composés phénoliques forment une large famille de substances caractérisées par la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyle liés à un noyau aromatique. Ils incluent des sous-classes telles que les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques et les lignines. Ces composés sont reconnus pour leurs propriétés anti oxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobienne (**Cheyrier, 2012**).

3.2. Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des composés azotés à structure complexe, généralement basiques, produits à partir d'acides aminés. Ils possèdent une grande variété d'activités pharmacologiques : analgésique, antipaludique, neurotoxique, etc (**Dewick, 2009**).

3.3. Terpènes et terpénoïdes

Les terpènes sont dérivés d'unités d'isoprène (C5) et constituent la plus grande classe de métabolites secondaires. On y retrouve des monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes (**Dewick, 2009**).

4. Mode de préparation des plantes médicinales

La préparation des plantes médicinales représente une étape essentielle pour assurer l'efficacité et la sécurité des principes actifs qu'elles contiennent. Qu'il s'agisse de pratiques traditionnelles ou de procédés modernes, différentes méthodes d'extraction sont mises en œuvre en fonction des parties de la plante utilisées (feuilles, racines, fleurs, écorce, etc.) et de la nature des métabolites secondaires recherchés. Ces techniques visent à optimiser la disponibilité des composés bioactifs tout en respectant leur intégrité chimique (**Bruneton, 2009 ; OMS, 2004 ; ESCOP, 2003**).

4.1. Principales méthodes de préparation :

En phytothérapie, plusieurs méthodes sont utilisées pour extraire les principes actifs des plantes selon la nature des parties utilisées. L'infusion, méthode la plus courante pour les tisanes, consiste à verser de l'eau bouillante sur les parties tendres comme les feuilles ou les fleurs, puis à laisser infuser quelques minutes. La décoction est réservée aux parties plus dures telles que les racines ou l'écorce, que l'on fait bouillir pendant 10 à 30 minutes pour en extraire les composés actifs. La macération consiste à laisser tremper la plante dans de l'eau froide ou dans un solvant comme l'alcool pendant plusieurs heures ou jours, ce qui permet d'extraire les substances sensibles à la chaleur. La teinture, quant à elle, est une préparation hydro-alcoolique obtenue par macération de plantes fraîches ou sèches dans l'alcool, et elle est particulièrement concentrée en principes actifs. Enfin, les extraits secs ou fluides, obtenus industriellement, permettent une standardisation précise des doses et une meilleure reproductibilité des effets thérapeutiques (**EMA, 2016**).

5. Application des plantes médicinales (la phytothérapie) :

La phytothérapie est une discipline médicale qui consiste à utiliser les plantes médicinales à des fins thérapeutiques. Elle peut intervenir de manière préventive, curative ou en complément d'autres traitements. Bien qu'elle s'appuie sur un savoir traditionnel ancien, elle bénéficie aujourd'hui d'un nombre croissant de validations scientifiques, notamment en pharmacologie. Ses principaux domaines d'application incluent les troubles digestifs, le stress et les troubles du sommeil, les infections respiratoires, les affections cutanées, ainsi que les douleurs articulaires et les inflammations. La phytothérapie moderne privilégie l'usage d'extraits standardisés, garantissant une concentration précise en principes actifs. Reconnue par des organismes de santé comme l'Organisation mondiale de la santé (OMS) ou l'Agence européenne des médicaments (EMA), elle représente désormais une alternative ou un complément crédible à la médecine conventionnelle (**Bruneton, 2009**).



CHAPITRE II

Les nanoparticules

1- Définition :

Une nanoparticule se caractérise par le fait qu'au moins l'une de ses dimensions spatiales est inférieure à 100 nanomètres, ce qui lui confère des propriétés physico-chimiques particulières. L'une de ses spécificités majeures réside dans la proportion élevée d'atomes présents à sa surface. Cette structure confère aux nanoparticules une surface spécifique extrêmement élevée, pouvant atteindre plusieurs centaines de mètres carrés par gramme (Lanone ,Boczkowski, 2010)

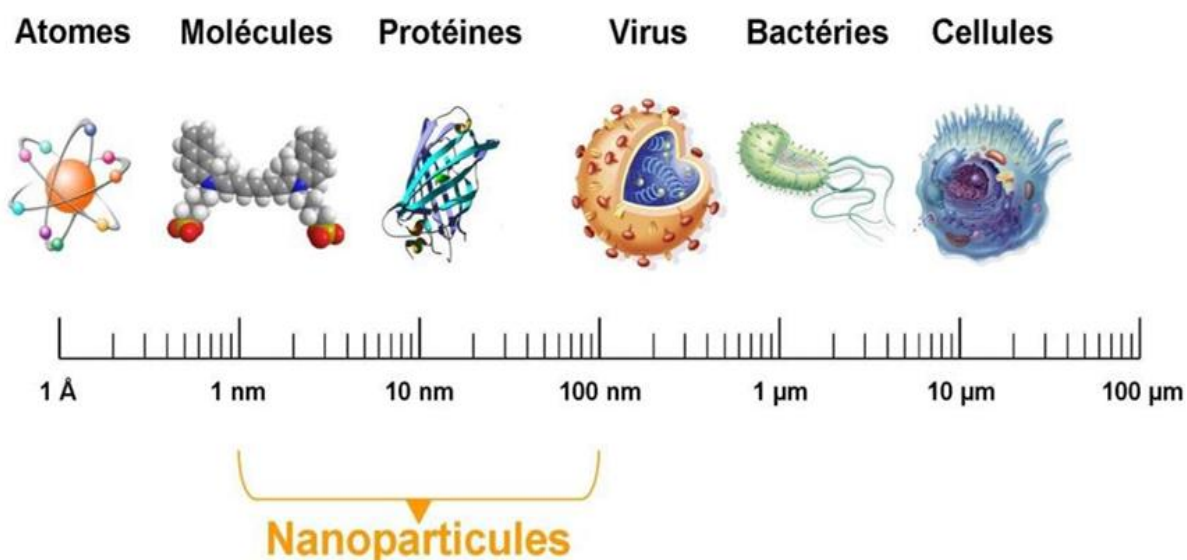


Figure 1 : Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celle des principales structures (Goutayer,2008)

2- Type des nanoparticules :

Les nanoparticules sont généralement classées en organiques, inorganiques et à base de carbone.

2-1-Nanoparticules organiques :

Le systèmes micellaires, lipidiques et polymériques sont des vecteurs nano technologiques utilisés pour le transport de substances thérapeutiques. Les micelles, formées par auto-assemblage de phospholipides, permettent l'encapsulation de molécules hydrophiles ou hydrophobes. Les liposomes possèdent une bicouche lipidique entourant un compartiment hydrophile, offrant des capacités d'encapsulation spécifiques. Les nanoparticules polymériques, fabriquées à partir de polymères naturels (albumine, héparine) ou synthétiques (PLA, PEG), forment des nanosphères stables capables de transporter divers agents thérapeutiques (Chuto , Riffaud, 2010)

2-2-Nanoparticules de carbone :

Traditionnellement, le carbone existe sous forme de graphène et de diamant, mais de nouvelles structures allotropiques ont été découvertes, comme les fullerènes et les nanotubes de carbone à paroi simple ou multiple (Bernard., 2007).

2-3-Nanoparticules inorganiques :

En plus des nanoparticules organiques, les nanoparticules inorganiques ont connu un développement important en raison de leurs propriétés physico-chimiques spécifiques, les rendant utiles dans de nombreuses applications biomédicales et industrielles (Goutayer, 2008). Parmi les plus répandues, on trouve :

2.3.1. Les nanoparticules métalliques, notamment celles à base d'or et d'argent, qui possèdent des propriétés optiques et antimicrobiennes intéressantes. Elles sont utilisées dans l'imagerie médicale, les traitements anticancéreux, ainsi que dans des dispositifs de détection biologique.

2.3.2. Les nanoparticules magnétiques, généralement à base d'oxyde de fer, qui peuvent être manipulées par des champs magnétiques externes. Elles sont exploitées pour le ciblage de médicaments, l'hyperthermie magnétique en cancérologie ou encore comme agents de contraste en IRM.

2.3.3. Les nanoparticules de silice (SiO_2), qui offrent une grande surface spécifique et une porosité réglable, idéales pour l'encapsulation et la libération contrôlée de substances actives. Elles sont également utilisées comme supports pour les catalyseurs.

2.3.4. Les nanocristaux semi-conducteurs, aussi appelés quantum dots, qui possèdent des propriétés de fluorescence exceptionnelles. Grâce à leur émission lumineuse stable et ajustable, ils sont particulièrement utilisés en bio-imagerie et en détection biomoléculaire.

Ces nanoparticules inorganiques complètent l'arsenal nanotechnologique avec des atouts spécifiques pour des usages variés, tout en soulevant, comme les autres types de nanoparticules, des questions de biocompatibilité et de toxicité

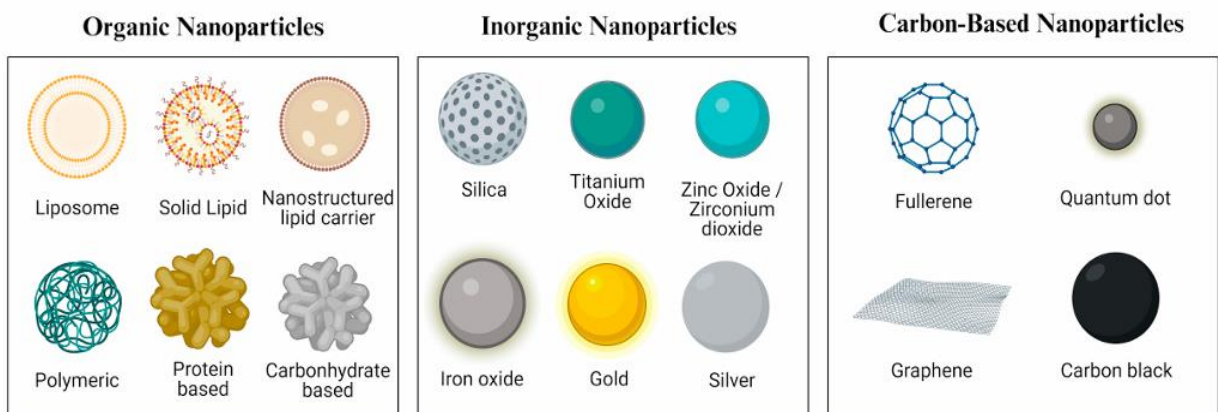


Figure 02 : types de nanoparticule (Furkan et al.,2024)

3- Propriétés des nanoparticules :

Les nanoparticules possèdent des propriétés uniques liées à leur petite taille (1 à 100 nanomètres), influençant leur comportement physico-chimique et leurs applications. Leur taille et leur forme particulières leur confèrent des caractéristiques distinctes de celles des matériaux à l'échelle macroscopique. Les nanoparticules métalliques, comme celles à base d'or, présentent des propriétés optiques remarquables dues à l'excitation collective des électrons de conduction sous l'effet du rayonnement électromagnétique. Leur grande surface spécifique augmente leur réactivité chimique, les rendant utiles notamment en catalyse. Certaines nanoparticules deviennent également biodégradables à l'échelle nanométrique, comme l'or, ce qui ouvre des perspectives en médecine. Toutefois, leurs propriétés uniques peuvent aussi entraîner des effets indésirables sur la santé humaine et l'environnement, nécessitant une évaluation rigoureuse de leur toxicité et de leur écotoxicité (**Chuto , Riffaud, 2010**)

4-Applications des nanoparticules :

Les nanoparticules ont des applications dans de nombreux domaines, notamment

- **Médecine :**

Les nanoparticules sont de plus en plus utilisées en médecine grâce à leurs propriétés physico-chimiques particulières, permettant des avancées significatives dans plusieurs domaines thérapeutiques et diagnostiques. Elles sont notamment employées pour la délivrance ciblée de médicaments, en transportant les substances actives directement vers les cellules malades, ce qui améliore l'efficacité du traitement tout en réduisant les effets secondaires. En imagerie médicale, certaines nanoparticules, comme les oxydes de fer ou les quantum dots, servent d'agents de contraste ou de sondes fluorescentes, permettant une visualisation précise des tissus et cellules d'intérêt. Enfin, la thérapie photo thermique exploite des nanoparticules (notamment d'or) capables de convertir l'énergie lumineuse en chaleur pour détruire localement les cellules tumorales. Ces applications montrent tout le potentiel des nanotechnologies dans la médecine moderne, tout en soulevant des enjeux en termes de sécurité et de biocompatibilité (**Goutaye , 2008**).

- **Énergie électrique :**

Elles sont utilisées dans le domaine de l'énergie électrique pour améliorer les performances des dispositifs électroniques et des cellules photovoltaïques. Applications mécaniques : Les nanoparticules offrent de nombreuses applications dans le domaine mécanique en raison de leurs excellentes propriétés mécaniques, telles que la résistance et la flexibilité.

- **Environnement :**

Les nanoparticules sont également utilisées dans des applications environnementales, par

exemple dans le traitement de l'eau et des eaux usées.

- **Cosmétiques :**

Les nanoparticules sont utilisées dans les produits cosmétiques pour améliorer leur efficacité, par exemple dans les crèmes solaires pour améliorer leur protection contre les rayons UV.

- **Alimentation :**

Les nanoparticules sont utilisées dans l'alimentation pour améliorer la texture et la saveur des aliments, ainsi que pour prolonger leur durée de conservation.

- **Automobile :**

Les nanoparticules sont utilisées dans l'industrie automobile pour améliorer la résistance et la légèreté des matériaux, ce qui peut conduire à une réduction de la consommation de carburant.

(Khan *et al.* , 2019).

- **Aéronautique et automobile :**

L'attention portée à la nanotechnologie augmente progressivement dans le domaine du transport. Les nanomatériaux, grâce à leurs propriétés physiques et chimiques, peuvent considérablement améliorer la sécurité, la rapidité et la durabilité des véhicules de transport. Ils servent à la confection de pneus solides et écologiques, de combustibles diesel et de peintures extérieures de plus en plus brillantes...-de-... d'anticorrosion, d'antirayures et d'antisalissure, des capteurs de performances pour les moteurs, des détecteurs de glace pour les ailes d'avion et des matériaux de construction renforcés, mais de faible densité (Shafique , Luo, 2019).

- **Électronique et Communication**

De nouvelles avancées dans les domaines de l'électronique et de la communication peuvent être réalisées en nanotechnologie grâce à l'ingénierie de nouveaux matériaux pour circuits, de nouveaux processeurs miniatures, de dispositifs de stockage d'informations à haute densité, d'ordinateurs plus rapides et de jeux électroniques, d'écrans plats sur des dispositifs électroniques, et surtout de nouvelles méthodes de transfert d'informations (Gayathri ,Satyanarayana, 2019)

- **Agro-alimentaire :**

La nanotechnologie est l'un des outils les plus importants de l'agriculture moderne, veillant à la durabilité et à la protection des aliments agricoles produits, qui incluent les cultures destinées à la consommation humaine et animale, en fournissant de nouveaux agents agrochimiques et de nouveaux mécanismes de distribution pour améliorer la productivité des cultures et diminuer l'utilisation de pesticides. Ces applications de la nanotechnologie comprennent le transfert de gènes ou d'ADN médié par des NPs vers les plantes pour créer des

variétés résistantes aux insectes, le traitement et le stockage des aliments, des additifs nanométriques et une augmentation de la durée de conservation (emballage actif) (**Sekhon, 2014**).

- **Chimie et Matériaux :**

Les nanomatériaux sont supérieurs aux matériaux conventionnels dans la prévention de la corrosion (**Taghavikish et al., 2017 ; Jain et al., 2020**).

Ils ont également été cités dans la fabrication de poudres céramiques, de catalyseurs multifonctionnels, de textiles et de revêtements antibactériens ultra-résistants (**Rivero et al., 2015 ; Ri et YooJin. , 2019**).

- **Électronique et Communication :**

De nouvelles avancées dans les domaines de l'électronique et de la communication peuvent être réalisées en nanotechnologie grâce à l'ingénierie de nouveaux matériaux pour circuits, de nouveaux processeurs miniatures, de dispositifs de stockage d'informations à haute densité, d'ordinateurs plus rapides et de jeux électroniques, d'écrans plats sur des dispositifs électroniques, et surtout de nouvelles méthodes de transfert d'informations (**Gayathri , Satyanarayana , 2019**).

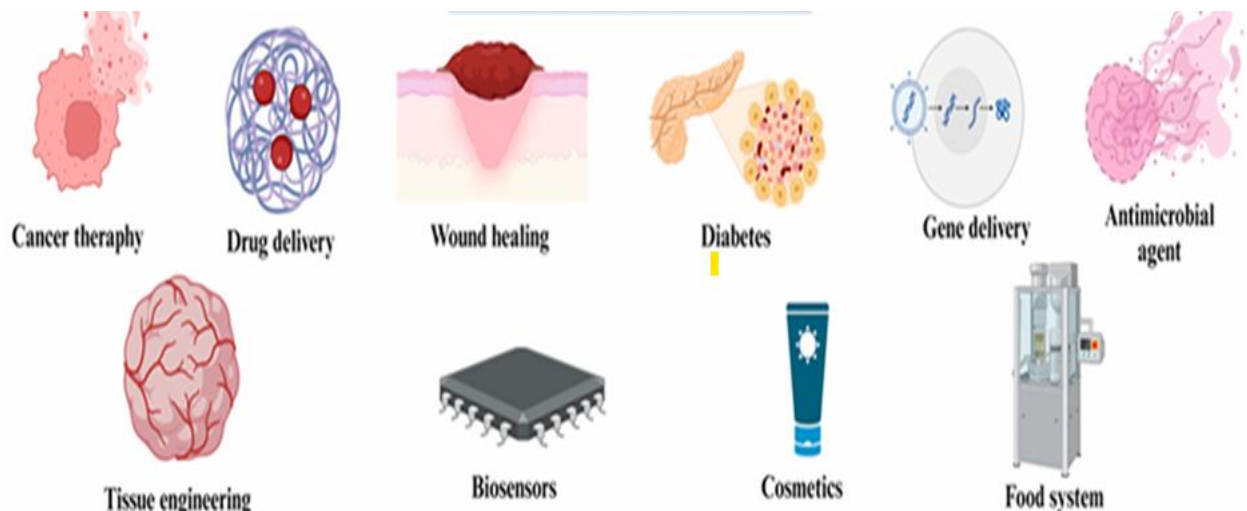


Figure 03 : applications de nanoparticules (**Furkan Eker et , al.,2024**)

5.Méthode de synthèse des NP

Il existe différentes méthodes qui peuvent être utilisées pour synthétiser des nanoparticules d'oxyde de zinc. Ces méthodes peuvent être divisées en deux types :

5.1. Les méthodes physiques :

La méthode physique, qualifiée d'approche « top-down », consiste à réduire des matériaux massifs en structures de taille nanométrique. Ce procédé implique généralement des techniques de broyage ou d'ablation, nécessitant des températures élevées et des équipements technologiques lourds et coûteux (**Mohanpuria et al, 2008**)

5.2. Les méthodes chimiques :

Les méthodes chimiques de synthèse, qualifiées d'approches « bottom-up », consistent à construire des nanoparticules à partir d'unités moléculaires ou atomiques, en particulier des ions métalliques utilisés comme éléments de base. Ce type de procédé présente l'avantage d'une mise en œuvre relativement simple et accessible (**Mohanpuria et al., 2008**)

5.3. Les méthodes biologiques :

La biosynthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) s'impose comme une stratégie novatrice et durable, offrant une alternative crédible aux méthodes chimiques classiques, souvent onéreuses et polluantes. Cette approche repose sur l'aptitude de certains micro-organismes, en particulier les bactéries, à transformer les ions métalliques en nanoparticules grâce à l'action synergique de leurs enzymes et de leurs métabolites. Les nanoparticules obtenues par cette voie présentent des caractéristiques structurales bien définies, une stabilité élevée ainsi qu'une bioactivité remarquable, notamment une forte activité antimicrobienne. Ces propriétés confèrent aux nanoparticules de ZnO biosynthétisées un potentiel significatif dans divers domaines d'application, notamment en biomédecine, en pharmacie, en catalyse et dans la dépollution environnementale (**Rasmussen et al ., 2010**)

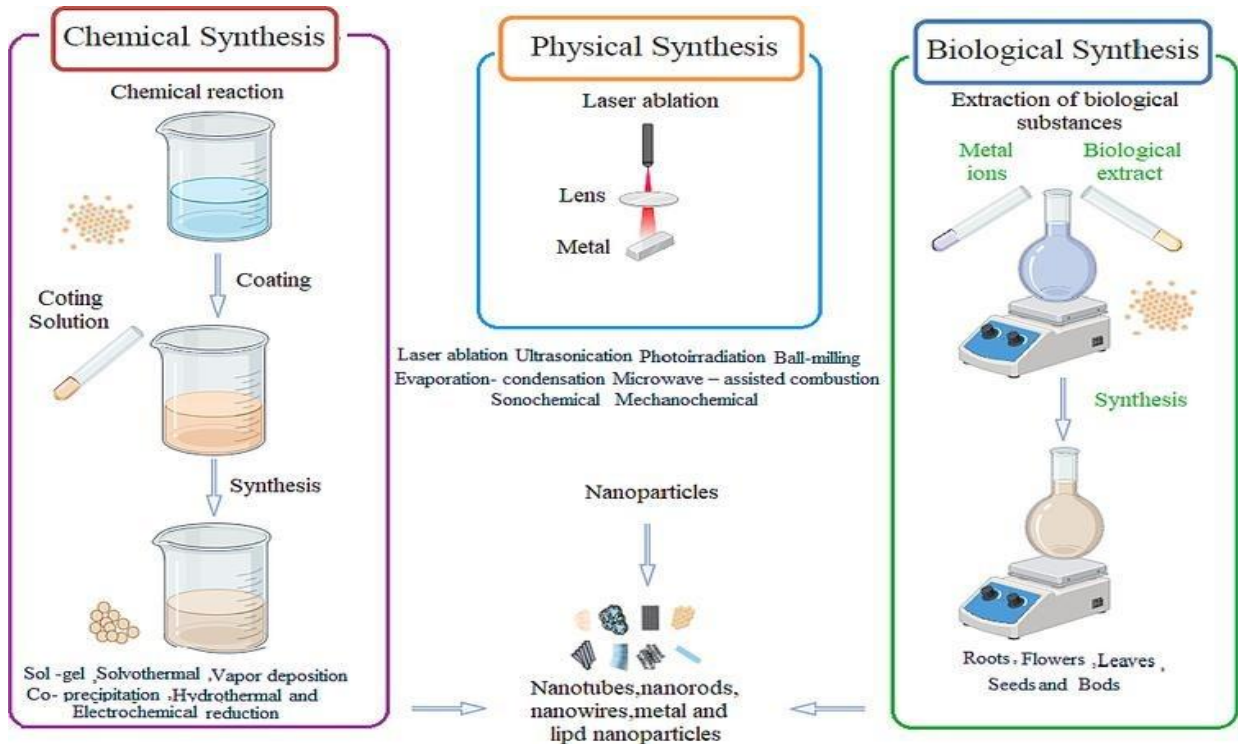


Figure 04 : méthodes utilisées dans la synthèse de NPs(**Mouhaned et al., 2024**)

6. La biosynthèse des nanoparticules

La biosynthèse des nanoparticules est une approche innovante et écologique qui utilise des organismes biologiques tels que les plantes, les bactéries, les champignons et les algues pour produire des nanoparticules. Contrairement aux méthodes chimiques ou physiques traditionnelles, la biosynthèse repose sur des mécanismes biologiques naturels capables de réduire les ions métalliques en nanoparticules, souvent dans des conditions douces de température et de pH (**Rai et al., 2016**).

Les extraits de plantes, par exemple, contiennent divers composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins et les enzymes qui agissent comme agents réducteurs et stabilisants. Cette méthode présente plusieurs avantages, notamment une production à faible coût, une compatibilité écologique, et l'obtention de nanoparticules biocompatibles, ce qui est particulièrement utile pour des applications biomédicales.

La taille, la forme et les propriétés des nanoparticules peuvent être contrôlées en ajustant des paramètres tels que la concentration de l'extrait, la température, et le temps de réaction. Ce processus vert offre donc une alternative prometteuse pour la fabrication durable de nanoparticules destinées à divers domaines, y compris la médecine, l'agriculture et l'industrie. (**Iravani, 2011**)

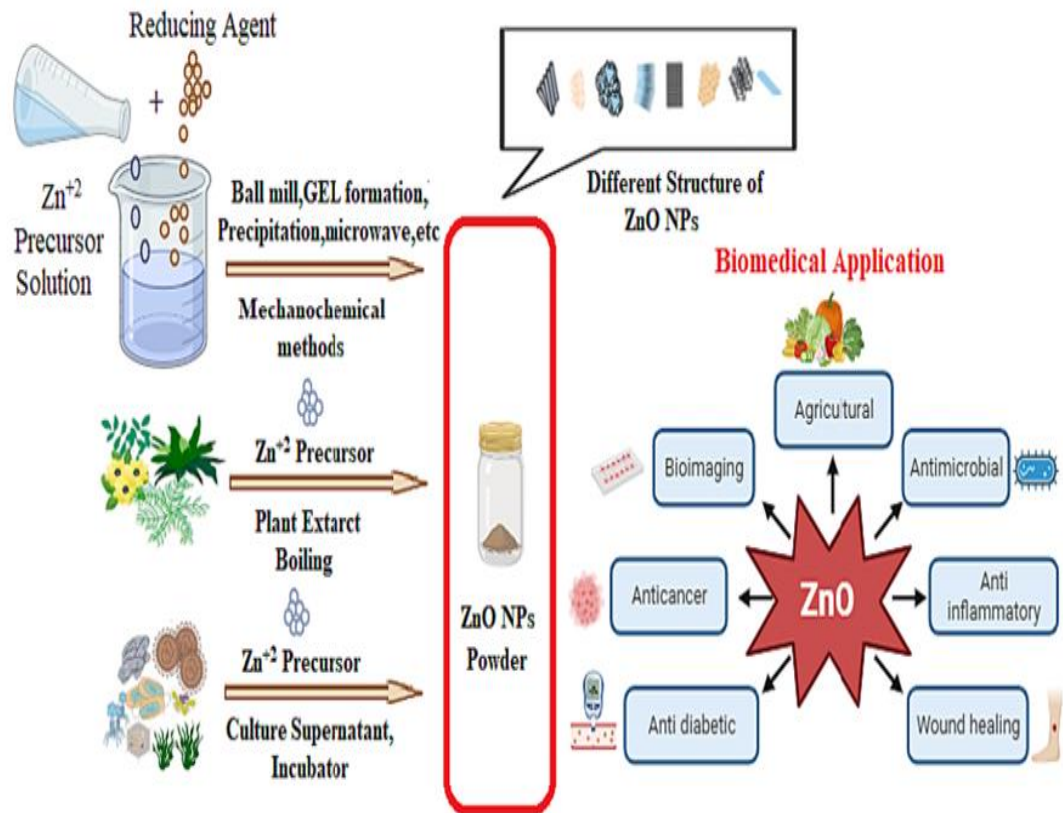


Figure 05 : processus de synthèse verte de ZnONPs (mouhane et *al.*, 2024)

6.1. Biosynthèse par les algues

Les algues, notamment les algues vertes, brunes et rouges, sont riches en composés bioactifs tels que les polysaccharides, les protéines et les pigments, qui favorisent la réduction des ions métalliques et la stabilisation des nanoparticules. Cette méthode est considérée comme rapide et respectueuse de l'environnement. Par exemple, l'algue *Sargassum wightii* a été utilisée pour la synthèse de nanoparticules d'or (AuNPs) et d'argent (AgNPs), avec des applications dans le domaine biomédical et environnemental. (Irvani , 2011)

6.2. Biosynthèse par les champignons

Les champignons présentent une capacité remarquable à produire des nanoparticules en raison de leur grande sécrétion d'enzymes extracellulaires, telles que les réductases et les protéines stabilisatrices. Les champignons comme *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger* ont été largement étudiés pour la synthèse de nanoparticules d'or et d'argent. Cette approche est avantageuse car elle permet une production à grande échelle sous des conditions relativement simples(Mukherjee et *al.*, 2001)

6.3. Biosynthèse par les plantes

Les extraits végétaux sont une source abondante de biomolécules telles que les flavonoïdes, les phénols, les tanins, et les alcaloïdes, qui agissent comme agents réducteurs et stabilisants. Les plantes offrent une voie rapide et économique pour la production de nanoparticules, avec un excellent contrôle sur la taille et la morphologie. Des plantes comme *Azadirachta indica* (neem) et *Camellia sinensis* (thé vert) ont été utilisées avec succès pour produire différentes nanoparticules métalliques (Iravani, 2011).

6.4. Biosynthèse par les bactéries

« L'utilisation des bactéries dans la biosynthèse des nanoparticules métalliques constitue un domaine émergent de la nanobiotechnologie. Les bactéries possèdent une capacité remarquable à réduire les ions métalliques par le biais d'activités enzymatiques, conduisant à la formation de nanoparticules de taille et de morphologie définies. Ces nanoparticules synthétisées biologiquement sont respectueuses de l'environnement et présentent une biocompatibilité accrue, ce qui les rend adaptées à des applications en médecine, en dépollution environnementale et en électronique. Par exemple, des espèces comme *Pseudomonas stutzeri* et *Bacillus subtilis* ont démontré leur efficacité dans la production extracellulaire de nanoparticules d'argent et d'or » (Narayanan, Sakthivel, 2010).

7. Nanoparticules L'oxyde de zinc

7.1. Définition

L'oxyde de zinc est un oligo-élément essentiel naturellement présent dans les muscles, les os, la peau et les dents (Pushpalatha et al., 2022). Sous sa forme nanométrique, les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) représentent le deuxième oxyde métallique le plus utilisé, après celui du fer, en raison de leur faible coût, toxicité réduite et facilité de synthèse (Lakshmipriya & Gopinath, 2021).

Les ZnO NPs sont des poudres blanches ayant une masse moléculaire de 81,38 g/mol. Elles se distinguent par leurs propriétés morphologiques, électriques et mécaniques uniques, qui expliquent leur large utilisation dans des domaines variés tels que la catalyse, l'optique et le magnétisme (Sirelkhatim et al., 2015). Ces caractéristiques les rendent hautement modulables, permettant des adaptations spécifiques selon les besoins d'application.

Les propriétés des ZnO NPs peuvent être modifiées par différents facteurs, notamment la taille des particules, l'ajout de composés dopants, ou encore les conditions de synthèse. En

général, plus la taille des particules est grande, moins les propriétés recherchées sont exprimées (**Pushpalatha et al., 2022**).

Une caractéristique intéressante de l'oxyde de zinc est sa propriété thermo-chromique : il change de couleur en passant du blanc au jaune à haute température, puis redevient blanc lors du refroidissement à l'air libre. Ce phénomène est dû à une légère perte d'oxygène.

Applications Biomédicales des ZnO NPs :

Grâce à leurs propriétés physico-chimiques particulières, les ZnO NPs ont un potentiel considérable en biologie et en médecine. Elles présentent un large éventail d'activités biologiques qui en font des candidats prometteurs dans plusieurs domaines thérapeutiques, notamment :

- Activité antimicrobienne
- Effet antioxydant
- Propriétés anticancéreuses
- Cicatrisation des plaies
- Systèmes de délivrance ciblée de médicaments

(**Pushpalatha et al., 2022 ; Lakshmipriya , Gopinath, 2021**)

7.2.1. Anticancéreuse

Les ZnO NPs sont étudiées pour leur capacité à induire la mort des cellules cancéreuses. Elles exercent leur effet par la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), provoquant un stress oxydatif, des dommages à l'ADN, et finalement l'apoptose des cellules tumorales. Elles peuvent également être utilisées en thérapie photothermique, où la chaleur générée par ces particules sous irradiation permet de détruire sélectivement les cellules tumorales

(**Premanathan et al., 2011 ; Raghupathi et al., 2011**).

7.2.2. Antidiabétique

Des études récentes suggèrent que les nanoparticules d'oxyde de zinc pourraient avoir un effet bénéfique sur le métabolisme du glucose. Elles participeraient à la régulation de la glycémie et à l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, ce qui les rend intéressantes pour le traitement du diabète de type 2 (**Jain et al., 2011 ; Umrani , Paknikar, 2014**).

7.2.3. Anti-inflammatoire :

Les ZnO NPs possèdent également des propriétés anti-inflammatoires. Elles sont capables de réduire l'inflammation en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires et en réduisant l'activation des voies inflammatoires, ce qui les rend utiles dans le traitement de maladies inflammatoires chroniques (**Palanikum et al.,2014**).

7.2.4. Antibactérienne :

L'un des effets les mieux documentés des nanoparticules de ZnO est leur activité antibactérienne. Elles exercent cette action en perturbant la membrane cellulaire des bactéries, en induisant un stress oxydatif via la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), et en interférant avec les composants intracellulaires bactériens, ce qui entraîne leur destruction (**Raghupathi et al., 2011 ; Sirelkhatim et al., 2015**).

CHAPITRE III
La résistance aux
antibiotiques

1. Définition des Antibiotiques :

Les antibiotiques ont joué un rôle important dans la diminution de la mortalité due aux maladies infectieuses, mais leur utilisation massive et répétée a entraîné l'émergence de souches multi résistantes. Cette résistance aux antibiotiques est l'une des grandes menaces aujourd'hui pour la santé humaine selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (**Jacry , 2022**).

On définit un composé de type antibiotique comme toute substance capable d'agir contre la vie des microorganismes. L'adjectif anti biotique (du grec anti : contre, bioti kos : concernant la vie) utilisé pour la première fois en 1889, en référence à une substance synthétisée par un organisme pour en détruire un autre, se précisera plus tard, comme une substance chimique produite par un microorganisme et disposant en solution diluée de la capacité d'inhiber sélectivement la croissance bactérienne- (**MUYLAERT, MAINIL ,2012**).

2. Classification des antibiotiques et mode d'action :

Les antibiotiques se répartissent en plusieurs familles selon leur structure chimique et leur mécanisme d'action- , chaque famille cible un site spécifique dans la bactérie, ce qui détermine leur spectre d activité et leur efficacité contre différents types de bactéries (**Lina , 2019**).

Le modes d action des anti biotiques Selon (**Lévy, Blanchard, 2021**).

2.1. Effet des antibiotiques sur la paroi de la bactérie :

- **Pénicillines** : inhibent la biosynthèse du peptidoglycane → lyse bactérienne.
Exemples : pénicilline G, ampicilline, amoxicilline.
- **Céphalosporines** : inhibent la synthèse de la paroi bactérienne (similaire aux pénicillines).
Exemples : céfazoline, céfuroxime, ceftriaxone.
- **Glycopeptides** : bloquent la formation du peptidoglycane → effet bactéricide.
Exemples : vancomycine, téicoplanine.
- **Carbapénèmes** : inhibent la synthèse de la paroi avec un large spectre.
Exemples : imipénème, méropénème, doripénème.

2.2. Effet sur la synthèse des protéines bactériennes (ribosomes) :

- **Macrolides** : se lient à la sous-unité 50S du ribosome → inhibition de la translocation.
Exemples : érythromycine, azithromycine, clarithromycine.
- **Tétracyclines** : se lient à la sous-unité 30S → empêchent la fixation de l'ARNt.
Exemples : tétracycline, doxycycline, minocycline.

- **Aminosides (aminoglycosides)** : se fixent à la sous-unité 30S → erreurs de lecture de l'ARNm, action bactéricide.
Exemples : gentamicine, amikacine, streptomycine.
- **Oxazolidinones** : bloquent l'initiation de la synthèse protéique (complexe 70S).
Exemples : linezolide, tédizolide.

2.3. Effet sur la synthèse ou réplication de l'ADN bactérien :

- **Quinolones** : inhibent l'ADN gyrase et la topoisomérase IV → blocage de la réplication.
Exemples : ciprofloxacine, lévofloxacine, moxifloxacine.

2.3. Effet sur le métabolisme des folates (acide folique) :

- **Sulfamides** : inhibent la synthèse de l'acide folique essentiel à la multiplication bactérienne.
Exemples : sulfaméthoxazole, triméthoprime, cotrimoxazole (association).

Il existe de nombreuses autres classes d'antibiotiques, mais cette liste comprend les principales classes utilisées en pratique clinique. Chaque classe d'antibiotiques a son propre mécanisme d'action et son spectre d'activité spécifique contre les bactéries. Il est important de noter que cette classification est une simplification générale et qu'il peut y avoir des variations et des chevauchements dans les mécanismes d'action entre les antibiotiques individuels au sein de chaque classe (**Koné, 2006**).

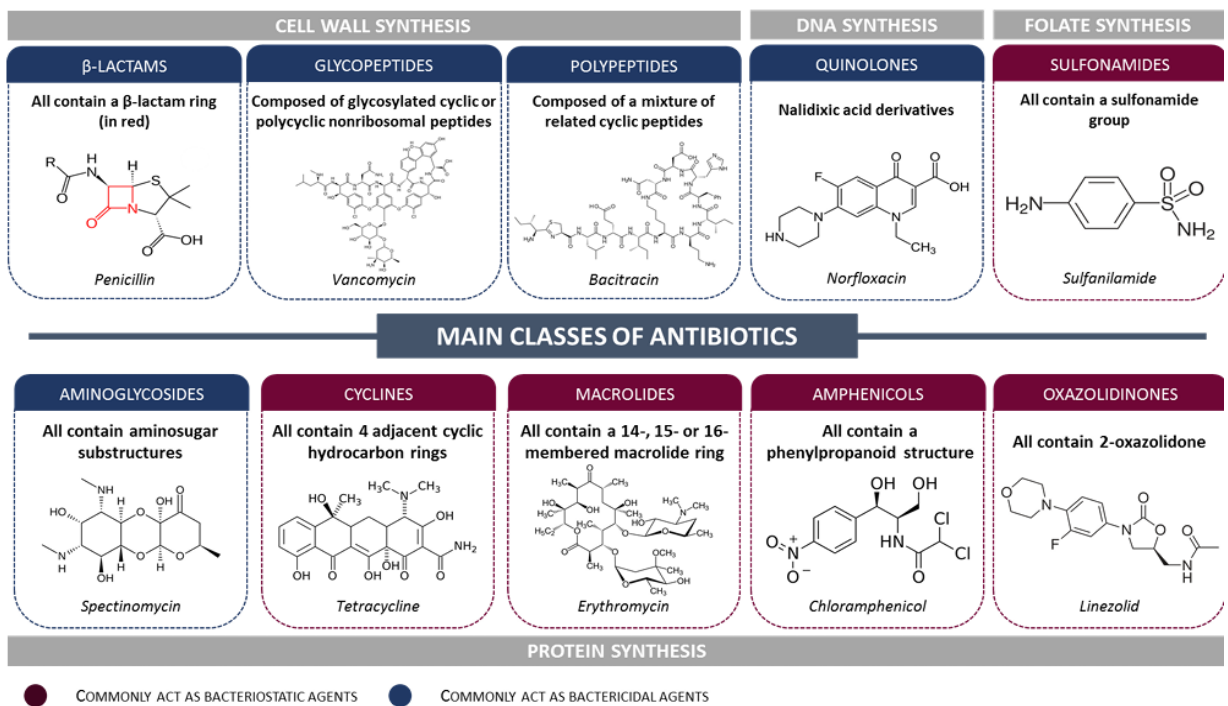


Figure 06 : principales classes des antibiotiques(Jacry ,2022)

Mode d’actions :

la réussite d’un traitement antibiotique repose à la fois sur le choix d’un antibiotique adapté au type structural de la bactérie cible et sur une compréhension fine des mécanismes de **pénétration et d’action** au sein de la cellule bactérienne. Cette connaissance est primordiale pour optimiser l’usage des antibiotiques face à la montée préoccupante des résistances bactériennes.

Tableau 1 : Mécanisme d action des familles d antibiotiques (Mehamdia ,Mouassa , 2014).

La cible	Familles d antibiotiques	Mode d action
Paroi	Bêtalactamines	les β-lactamines sont des inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne. Ils se comportent comme des inhibiteurs de la transpeptidase, enzyme clé dans la synthèse du peptidoglycane qui assure la forme et l’intégrité de la cellule bactérienne.
Membrane	Polymixines	Modifient la perméabilité de la membrane externe des bactéries Gram négatif.

Ribosomes	Aminosides Phénicoles Tétracyclines	Inhibiteurs de la synthèse Protéique (fonction bactéricide).
L ADN	Quinolones	Inhibiteur de la gyrase bactérienne
Polymérase	Ryfamicines	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARN.
La synthèse de l'acide folique	Sulfamides Triméthoprimes	Il inhibe le fonctionnement de la dihydrofolate réductase qui catalyse la réduction du dihydrofolate en tétrahydrofolate qui intervient dans le métabolisme des acides aminés et des acides nucléiques.

4. La résistance des antibiotiques

A partir du milieu du XXe siècle, l'utilisation généralisée des antibiotiques a permis de traiter efficacement de nombreuses infections humaines et animales. Toutefois, cette utilisation massive a conduit à une augmentation importante de la résistance bactérienne, avec une hausse estimée de 40 % de la consommation mondiale en médecine humaine entre 2000 et 2010 (**Opatowski. , 2021**)

La résistance aux antibiotiques se définit comme l'inefficacité d'un antibiotique contre une bactérienormalement sensible(**jary, 2021**) , Cette résistance se manifeste par la survie et la multiplication des bactéries malgré la présence d'un agent antimicrobien autrefois efficace .(**Davies , 2010**)

Plusieurs mécanismes expliquent cette résistance : modification de la cible de l'antibiotique, surexpression de cette cible, réduction de la perméabilité membranaire, activation de pompes d'efflux, ou encore destruction directe de l'antibiotique par des enzymes comme les bêta-lactamases.(**Opatowsk, 2020**).

4.1. La Résistance Naturelle

la résistance naturelle une propriété commune à toutes les souches d'une même espèce bactérienne. Elle résulte généralement de l'impossibilité pour l'antibiotique d'atteindre sa cible, soit à cause d'une barrière d'imperméabilité, soit en raison de la dégradation de l'antibiotique par des enzymes produites naturellement par la bactérie. Cette résistance est d'origine chromosomique, ce qui la rend stable, permanente et transmise de manière verticale (de la bactérie mère à sa descendance). Contrairement à d'autres types de

résistance, elle n'est en principe pas transférable à d'autres bactéries par des mécanismes de **transfert horizontal** tels que la conjugaison, la transformation ou la transduction (sadikalay ,2018)

4.2. La Résistance Acquise Aux Antibiotiques :

4.2.1. Par mutation chromosomique :

La résistance acquise par mutation chromosomique est un phénomène naturel qui survient généralement vis-à-vis d'un seul antibiotique ou d'une seule famille. L'exposition à l'antibiotique exerce une pression de sélection, favorisant la survie des bactéries porteuses de mutations spécifiques, qui deviennent ainsi résistantes. Ce type de résistance est permanente, transmise verticalement (de la bactérie mère à sa descendance), et découle souvent de la modification ou de la perte d'une protéine bactérienne essentielle, qu'elle soit structurale ou enzymatique (Davies, 2010).

4.2.2. Par transfert de matériel génétique exogène :

La résistance peut également être acquise par transfert horizontal de gènes, c'est-à-dire entre bactéries non apparentées génétiquement. Ce transfert peut se faire par :

- Transformation : absorption d'ADN libre depuis l'environnement ;
- Conjugaison : transfert direct d'ADN via un plasmide entre deux bactéries en contact ;
- Transduction : transmission de gènes par l'intermédiaire d'un bactériophage, virus infectant les bactéries.

Ces mécanismes permettent la diffusion rapide de gènes de résistance dans une population bactérienne, même entre espèces différentes (Sadikalay, 2018)

5. Les effets thérapeutiques :

Les antibiotiques ont révolutionné la médecine moderne en permettant de traiter efficacement des infections bactériennes autrefois mortelles, telles que la pneumonie, la tuberculose ou la septicémie. Parmi eux, les bêta-lactamines, comme la pénicilline, exercent leur action en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne, ce qui entraîne la lyse et la mort des micro-organismes (Aminov, 2010)

✓ Éradication de l'infection

Les antibiotiques ciblent les structures ou fonctions vitales des bactéries, comme la paroi cellulaire (ex : bêta-lactamines), la synthèse des protéines (ex : macrolides, tétracyclines), ou l'ADN bactérien (ex : quinolones). Cela permet une élimination rapide de la population bactérienne, menant à une guérison clinique.

Exemple : La pénicilline, en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire, a permis une réduction drastique de la mortalité due à la pneumonie bactérienne et à la syphilis (**Aminov, 2010**).

✓ **Soulagement des symptômes et amélioration clinique**

Lorsqu'ils sont utilisés de manière appropriée, les antibiotiques permettent une amélioration rapide de l'état clinique du patient. Ils contribuent notamment à la réduction de la fièvre, à la diminution de l'inflammation et à la disparition des symptômes associés à l'infection. Ces effets bénéfiques ont fait des antibiotiques des outils incontournables dans la prise en charge des maladies infectieuses. (**Ventola , 2015**).

✓ **Prévention des infections en contexte chirurgical et immunodéprimé**

L'usage prophylactique des antibiotiques, en particulier avant une intervention chirurgicale ou chez les patients immunodéprimés, a considérablement réduit les risques d'infections postopératoires. Grâce à leur action préventive, les antibiotiques permettent aujourd'hui de réaliser des actes médicaux complexes avec un niveau de sécurité accru. (**Spellberg, Gilbert, 2014**)

✓ **Impact sur la santé publique**

Outre leur efficacité individuelle, les antibiotiques jouent également un rôle important en santé publique. En traitant rapidement les patients atteints de maladies infectieuses contagieuses, comme la coqueluche ou la méningite, ils réduisent significativement la transmission de l'infection à d'autres personnes, contribuant ainsi à la maîtrise des épidémies. (**Laxminarayan, et al., 2013**).

6. Les causes des résistances antibactériennes et solutions :

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui un problème de santé publique majeur à l'échelle mondiale. Elle résulte principalement d'un usage excessif et inapproprié des antimicrobiens chez l'homme et dans le secteur vétérinaire, ce qui favorise l'apparition de souches bactériennes multi résistantes (**WHO, 2015**).

Face à cette menace croissante, la recherche se tourne vers des alternatives naturelles et technologiques prometteuses. Parmi celles-ci, les plantes médicinales, riches en composés bioactifs, et les **nanoparticules**, dotées de propriétés antimicrobiennes uniques, suscitent un intérêt croissant pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques capables de contourner les mécanismes classiques de résistance

Voici quelques solutions pour réduire ce problèmes biologique;

➤ **Utilisation responsable des antibiotiques**

il est essentiel d'adopter une utilisation raisonnée, en suivant les prescriptions médicales et en évitant l'automédication. Cela permet de réduire la pression exercée sur les agents pathogènes

et de ralentir l'émergence de résistances. (WHO, 2014).

➤ **Renforcement de la prévention des infections**

L'adoption de mesures strictes d'hygiène, notamment dans les établissements de santé, représente un levier important pour limiter la propagation des bactéries résistantes. De plus, certaines nanoparticules possèdent des propriétés antimicrobiennes qui peuvent être exploitées dans les revêtements de surfaces médicales pour prévenir les infections nosocomiales (Rai et al., 2012).

➤ **Détection rapide et surveillance**

La mise en place de dispositifs de détection précoce des bactéries résistantes constitue une étape essentielle pour optimiser la prise en charge des infections. Grâce aux progrès récents en nanotechnologie, il est désormais possible de développer des biocapteurs performants, capables d'identifier rapidement les agents pathogènes résistants et de guider ainsi les décisions thérapeutiques de manière plus ciblée, facilitant ainsi un traitement adapté (Zhou et al., 2021).

➤ **Recherche sur de nouvelles alternatives**

Les extraits de plantes médicinales offrent un large éventail de composés antimicrobiens naturels. Combinés à des nanoparticules, ces extraits peuvent voir leur activité renforcée et mieux ciblée, limitant ainsi l'impact sur les cellules saines et réduisant les risques de résistance (Singh et al., 2020).

➤ **Éducation et sensibilisation**

Une meilleure sensibilisation des professionnels de la santé et du grand public à la menace de l'antibiorésistance est cruciale. La formation continue et la diffusion d'informations scientifiques peuvent encourager des pratiques responsables et favoriser l'adoption de nouvelles solutions thérapeutiques comme les nanoparticules ou les extraits de plantes (WHO, 2015).

PARTIE II

Études expérimentales

CHAPITRE I

Matériel et méthodes

▪ **Lieu de l'étude :**

Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Echahide Hama Lakhdar d'El Oued, où la synthèse des nanoparticules a été effectuée. Leur caractérisation, notamment l'analyse par diffraction des rayons X (DRX), a également été conduite dans le laboratoire LEVRES de la même université. L'évaluation de l'activité anti-biofilm et anti-inflammatoire a, quant à elle, été réalisée au laboratoire privé El Madjed, situé dans la wilaya d'El Oued.

Matériels et Méthodes :

1. Matériel :

1- Matériels biologiques :

1- 1-Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé correspond à la partie aérienne d'une plante médicinale qui a été collectée au mois janvier 2025 au niveau de la wilaya de Batna. La partie aérienne de la plante est nettoyé des impuretés, séché à température ambiante pendant 3 semaines, puis broyé et enfin conservé dans des sachets en papier normal jusqu' à l'utilisation.

1- 2 - Les souches bactériennes utilisées :

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont :

- Escherichia coli ATCC 25922
- Staphylococcus aureus ATCC 25932
- Bacillus subtilis AT 25973
- Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

1 -3-Matériels de laboratoire :

Fioles en verre, Cristallisoirs, Flacons stériles, Papier de Wattman, Tubes à essai, Erlenmeyer
Plaque micro titrée à 96 puits

1-4-Appareils de laboratoire :

Agitateur magnétique, Etuve, Centrifugeuse, Four, Bain à ultrasons, Bain-marie, Spectroscopie dispersive en énergie (EDX).

1-5-Produits et réactifs :

L'acide sulfurique (H_2SO_4), l'acide chlorhydrique (HCl), l'acide acétique glacial et l'acide trichloracétique.

la solution de $FeCl_3$, l'ammoniaque diluée, le réactif de Mayer, le réactif de Wagner, le chloroforme, l'hydroxyde de sodium (NaOH), le réactif de Folin-Ciocalteu, le réactif à la vanilline, le DPPH, et le diméthylsulfoxyde (DMSO). le chlorure ferrique ($FeCl_3$), le carbonate de sodium, le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), l'acétate de zinc ($Zn(CH_3CO_2)_2$), le tampon phosphate et la solution saline tamponnée au Tris (TBS). L'eau distillée, le méthanol, l'eau déminéralisée et la Céfazoline.

2. Méthodes :

2.1. Préparation des extraits de plante médicinales

2.2. Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux de l'espèce étudiée est obtenu par une macération à chaud, la solution obtenue subit a filtration successive à l'aide d'un Bûcher sur du papier filtre moyen et on obtient le filtrat. Le filtrat est réparti dans un cristalliseur en verre non fermées et placées ensuite dans l'étuve de dessiccation à $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 3 jours. Nous avons obtenu des extraits sous forme de patte solide. Cette patte est grattée avec une spatule plate et conservées ainsi au réfrigérateur à $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans des Eppendorf fermés couverts avec le papier d'aluminium jusqu' utilisation.

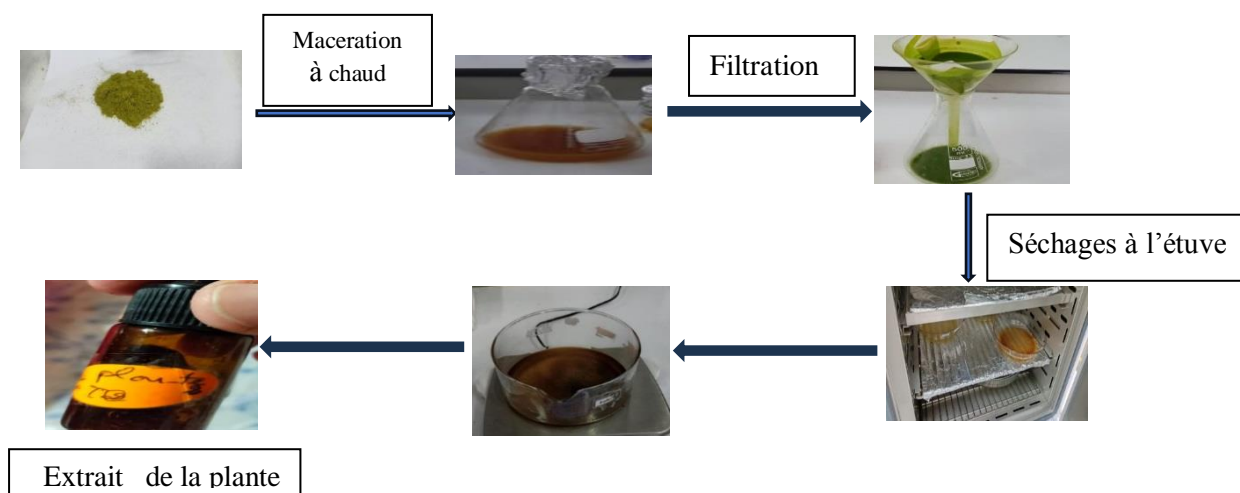


Figure 7 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux de la plante étudiée.(photos personnelles)

2.1.2. Évaluation du rendement de l'extrait :

Afin de quantifier l'efficacité du processus d'extraction, le rendement de l'extraits a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Rendement \%} = (\text{PE} / \text{PP}) \times 100$$

PE = poids sec d'extrait en gramme

PP = poids sec de la plante en gramme (**Mohammedi, 2006**).

2.2. Etude phytochimique des extraits :

Le criblage phytochimique est une analyse qualitative visant à identifier les principaux groupes de composés chimiques présents dans un extrait de plante.

2.2.1. Screening phytochimique (Description de l'analyse) :

L'identification des composés phytochimiques présents dans l'extrait aqueux brut de plante étudiée (poly phénols, flavonoïdes, alcaloïdes, terpénoïdes, saponines, tannins, coumarine, glycosides ...) réalisée en utilisant les méthodes standard-(**Harborne, 1973 ; Trease et Evans, 1989 ; sofawara, 1993 ; Matos, 1997 ; Beko et al., 2008**) .

Tableau 2 : screening phytochimique des composés phytochimiques (Harborne, 1973 ;Trease et Evans, 1989 ; sofawara, 1993 ; Matos, 1997 ; Beko et *al.*, 2008) .

Composé Chimique	Réactifs Ajoutés	Observation Positive
Polyphénols	Quelques gouttes de FeCl ₃ à 2 % (p/v)	Coloration verdâtre ou bleu noirâtre
Flavonoïdes	1 mL H ₂ SO ₄ , 5 mL NH ₃ diluée	Apparition d'une couleur jaune
Tanins	1 mL de FeCl ₃ à 2 % (aqueux)	Teinte verdâtre ou bleu-noirâtre
Alcaloïdes	Quelques gouttes d'HCl, réactif de Mayer, réactif de Wagner	Précipité blanc (Mayer) ou brun (Wagner)
Terpénoïdes	3 mL H ₂ SO ₄ concentré, 2 mL chloroforme	Couleur brun rougeâtre
Saponines	Agitation en tube à essai (extrait aqueux)	Mousse continue \geq 1 cm après 15 minutes de repos
Glycosides cardiaques	2 mL chloroforme, ajout délicat de H ₂ SO ₄	Teinte brun rougeâtre à l'interface des liquides
Coumarines	Quelques mL de NaOH	/
Quinones	Soude diluée	Coloration bleu-vert ou rouge
Stéroïdes	5 gouttes de H ₂ SO ₄ pur	Couleur brun rougeâtre

2.2.2. Analyses quantitatives :

a- Dosage des phénoliques totaux :

Selon **Slinkard et Singleton en 1977**, la méthode de Folin- Ciocalteu a été utilisée pour déterminer la quantité totale de composés phénolique. Pour 0,2 ml d'extrait aqueux de plante on ajoute 1ml de réactif de Folin – Ciocalteu à 10%. Après 4 minutes, 0,8 ml de carbonate de sodium (75g / l) ont été ajoutés.

A température ambiante, après 2 heures d'incubation, l'absorbation a été mesurée à 765 nm, l'acide gallique étant utilisé comme étalon pour l'étalonnage linéaire, la teneur totale en composés phénoliques a été exprimée en μ g d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait.

b- Dosage des flavonoïdes totaux :

Pour déterminer la teneur totale en flavonoïdes de l'extrait de la plante, la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl₃) a été utilisée (Ahn et al., 2007) ; 1ml de la solution d'AlCl₃ est mélangé à 1ml de l'échantillon, le même volume pour l'étalon, et les résultats sont déterminés à l'aide d'une équation d'étalonnage linéaire avec la quercétine comme étalon. Après 30 minutes, l'absorbance à 430 nm a été mesurée par rapport au blanc réactif préparé. Les résultats ont été présentés en µg de quercétine pour chaque milligramme d'extrait.

c. Dosage du tanin condensé :

La quantité de tanin dans l'extrait de plante a été mesurée à l'aide des techniques décrites par (Broadhurst , Jones, 1978).

0,5 ml de l'échantillon a été bien mélangé avec 3 ml de réactif à la vanilline (vanilline à 4% p/v dans le méthanol) avant d'ajouter 1,5 ml d'acide chlorhydrique à 8 %. Après 15 minutes, l'absorbance de la réaction a été mesurée à 500 nm par rapport à l'eau. La valeur de référence de la catéchine a été utilisée pour éponger les quantités d'échantillon et la courbe d'absorbance standard. Les résultats ont été donnés en mg d'extrait divisés par µg de catéchine.

2.3. Evaluation de l'activité antioxydant

1-3-3-1-Activité de piégeage des radicaux libres DPPH :

▪ Principe du test

Pour évaluer l'activité de piégeage du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), nous avons utilisé la procédure de (Kumar et al., 2014) selon laquelle le radical libre stable DPPH est fréquemment utilisé pour évaluer la capacité du composant antioxydant à piéger les radicaux libres, elle a été légèrement modifiée.

▪ Protocole

Un volume d'extrait de plante à différentes concentration (de 7 à 125 µg / ml) a été mélangé à 1ml de solution méthanolique de DPPH (0,1 mM ; 3,94 mg de DPPH ont dissous dans 100 ml de méthanol). (Abdullah et al., 2020).

Dans un environnement sombre à température ambiante, le mélange a été agité vigoureusement et laissé reposer pendant 30 minutes, à 517 nm, l'absorbance du mélange a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'acide gallique a été utilisé comme contrôle positif. L'absorbance plus faible du mélange réactionnel a montré un pourcentage plus élevé d'activité de piégeage.

Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois et l'activité antioxydante (Pourcentage d'inhibition %) est estimée selon l'équation suivante : Effet de piégeage du DPPH (%) =

$$\left(\frac{A_0 - A_1}{A_0}\right) \times 100$$

Où A_0 = Absorbance de l'extrait d'échantillon témoin.

A_1 = Absorbance de l'extrait d'échantillon après 30 minutes

2.3.2. Dosage de la capacité antioxydante totale :

▪ Principe

Le test au phosphomolybdène, qui évalue l'activité antioxydante en se basant sur la transformation du molybdène (VI) en molybdène (V) dans un milieu acide, est une méthode fréquemment employée. Cette approche est particulièrement adaptée pour mesurer la capacité antioxydante globale de différentes substances, y compris des extraits végétaux et des denrées alimentaires. Le complexe vert produit durant la réaction est quantifié à l'aide de spectrophotométrie, en général à une longueur d'onde de 695 nm, facilitant ainsi une mesure basée sur une courbe d'étalonnage. L'acide gallique est fréquemment utilisé comme standard (Vlasaku , Tomovska, 2024 ;Untea et al., 2018).

▪ Protocole

La méthode au phosphomolybdène a été utilisée pour évaluer l'activité antioxydante totale de l'extrait. L'acide gallique a été utilisé comme étalon, 2ml de solution réactive contenant 0,6 M d'acide sulfurique, 4 mM de molybdate d'ammonium et 28 mM de phosphate de sodium, mélangés à 0,2 ml d'échantillons à une concentration de 20 – 200 µg / ml.

Les tubes ont été incubés pendant 90 minutes dans un bain d'eau chaude à 95 C°.

Les mêmes conditions ont été appliquées pour le standard. Les échantillons ont ensuite été climatisés à température ambiante.

A 695 nm, l'absorbance du mélange préparé a été mesurée par rapport à une solution à blanc (0,2 ml d'eau distillée à la place d'extrait).

L'activité antioxydante totale (TAC) a été mesurée en milligrammes de GAE par milligramme d'échantillons.

2.3.3. Dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) :

▪ Principe :

La technique FRAP repose sur la transformation de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette approche mesure la capacité réductrice des composés. La présence de réducteurs (AH) dans les extraits végétaux entraîne la conversion du complexe ferricyanure en sa forme ferreux, Fe^{3+} . Ainsi, on peut évaluer la présence de Fe^{2+} en observant et en suivant l'accroissement de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung *et al.*, 2002).

▪ Protocole

0,5 ml des concentrations de 20 à 200 ug / ml des échantillons ont été mélangées avec 1,25 ml de ferricyanure de potassium (1 %) et 1,25 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH = 6,6) Après 20 min d'incubation à 50 C°, on ajoute 1,25ml de l'acide trichloracétique (10 %) suivi par une centrifugation pendant 10 minutes. 1.25 ml de surnageant ont été mélangé avec quantité identique d'eau distillé, 0,25ml de chlorure ferrique (0,1 %). Le même processus pour l'acide ascorbique comme contrôle positif à été utilisé. L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV- vis à 700 nm. L'activité antioxydante totale (FRAP) a été mesuré en milligramme d'échantillons

2.4. Synthèses des nanoparticules :

2.4.1. Synthèse des nanoparticules de Zinc :

Ont été créées, moyennant des modifications mineures, selon une technique précédemment décrite par Azzi M *et al.* (2024). Dans cette méthode de synthèse respectueuse de l'environnement, 20 ml d'extrait aqueux a été mélangé à 100 ml d'une solution de Zn (CH_3CO_2)₂ 0,5 M. À l'aide d'un agitateur magnétique, ce mélange a été agité pendant deux heures à température ambiante. Le pH de 12 a ensuite été progressivement atteint par ajout de NaOH 0,02 M. Le mélange résultant a été agité en continu à 150 tr/min pendant une heure pendant la période d'incubation. Le sel bio-réduit est devenu visible sous forme d'un précipité blanc qui s'est recueilli au fond du flacon.



Figure 8 : Biosynthèse des nanoparticules d'Oxyde de Zinc (Photo personnelle)

Plusieurs redispersions dans de l'eau déionisée ont été nécessaires pour la purification, et une centrifugation a été effectuée trois fois à 3000 tr/min pendant 30 minutes.

Le produit final, une poudre blanche, a été séché dans un four réglé à 60°C pendant toute la nuit avant d'être stocké pour une utilisation ultérieure.



Figure9 : Nanoparticules d'Oxyde de zinc en poudre (photo personnelle)

Le processus de calcination du ZnO NPs a (450 -500 C⁰) est crucial (car il affecte les caractéristiques structurales, morphologiques et fonctionnelles des nanoparticules d'oxyde de zinc.

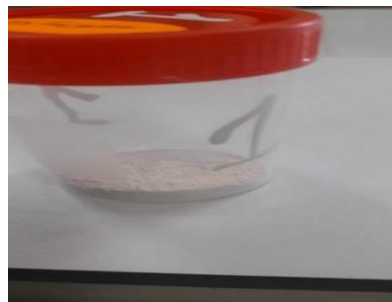


Figure 10: nanoparticules d'oxyde de zinc après calcination. (Photo personnelle)

2.4.3. Préparation de (ZnO NPs) enrobées d'antibiotique :

Le ZnO synthétisé a été dissous dans de l'eau déminéralisée, puis le mélange a été placé dans un bain à ultrasons pendant 20 minutes à une température de 40 °C.

Puis nous avons ajouté de de Cefazoline, et nous laissons le mélange sous agitation magnétique pendant 4 heures à température 40 C°.

Ensuite, un lavage à l'eau déminéralisée a été effectué, suivi d'une centrifugation à 3900 rpm pendant 20 minutes.

Le précipité est séché à l'étuve à 40 C° pendant 24 heures pour obtenir la poudre d'ZnO NPs pure enrobées de Cefazoline.

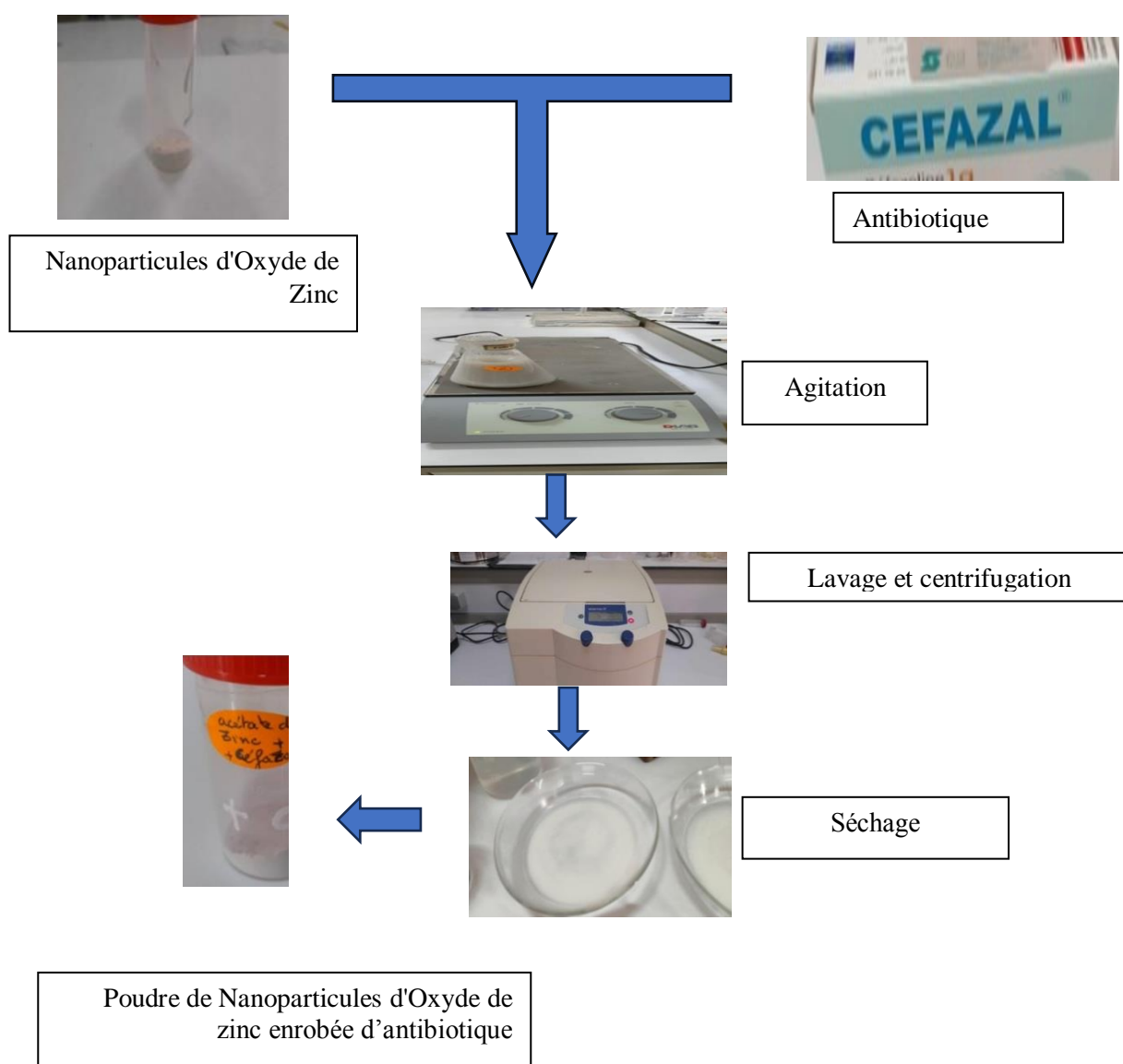


Figure 11: Protocole de préparation NP de ZnO enrobées d'antibiotique. (Photos personnelles)

2.4.4. Caractérisation de nanoparticules :

a. Diffraction des rayons X (DRX)

Pour évaluer la cristallinité et la granulométrie des nanoparticules synthétisées vertes, une analyse par diffraction des rayons X sur poudre (DRX) a été réalisée à l'aide d'un rayonnement K de cuivre avec un diffractomètre à rayons X (Mini Flex 600 Rigaku ; $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$, couvrant la plage 2θ de 25 à 90. En choisissant le pic principal avec l'intensité la plus élevée, l'équation de Scherrer (**équation 02**) a été utilisée pour calculer la taille des cristallites.

$$D = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \theta} \quad (2)$$

Où D représente la taille de la cristallite, k désigne le facteur de forme (0,9), λ est la longueur d'onde (0,154281 nm, CuK α), h représente la largeur totale à mi-hauteur (FWHM) et l'angle de diffraction est θ .

2.5. Effet de nanoparticules sur la formation du biofilm :

Afin d'évaluer l'effet des nanoparticules (**PN1**: ZnO NPs et **PN2**: ZnO NPs + CEFAZOLI) sur la formation de biofilm, des cultures bactériennes en phase stationnaire ont été diluées et transférées dans une plaque microtitrée à 96 puits. Une concentration sous-inhibitrice de chaque nanoparticule, préparée à partir d'une solution mère de 250 $\mu\text{g/mL}$ et diluée en six concentrations décroissantes, a été ajoutée aux puits. La plaque a été incubée à 37°C pendant 24 heures sans agitation.

Pour quantifier les cellules formant le biofilm, le surnageant des cultures a été éliminé, et chaque puits a été lavé deux fois avec une solution tampon phosphate salin (PBS) afin d'éliminer les cellules non adhérentes. Les puits ont ensuite été séchés à l'air, puis colorés avec 200 μL de cristal violet à 0,1% pendant 30 minutes. Après élimination du colorant, la plaque a été rincée à l'eau distillée. L'intensité de la coloration des cellules fixées (indiquant la biomasse du biofilm) a été mesurée à 570 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque, après addition de diméthylsulfoxyde (DMSO).

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été définie comme étant la plus faible concentration de nanoparticule empêchant la croissance bactérienne visible. Pour déterminer la concentration minimale bactéricide (CMB), 5 μL de chaque suspension diluée ont été déposés sur des milieux MHB, puis incubés à 37°C pendant 12 heures (**Guo et al., 2021**).

6-Évaluation comparative de l'effet de ZnO NPs et ZnO NPs enrobées d'antibiotique pour l'inhibition de la dénaturation des protéines induite par la chaleur :

L'activité anti-dénaturation des deux composés (**PN1**: ZnO NPs et **PN2**: ZnO NPs + CEFAZOLI), a été évaluée à l'aide d'un test de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA). L'expérience a été réalisée dans des tubes à essai dont le volume réactionnel final ne dépassait pas 3,0 mL. Une solution de BSA à 0,4 % (p/v) a été préparée dans une solution saline tamponnée au Tris (TBS), et le pH a été ajusté à 6,4 à l'aide d'acide acétique glacial si nécessaire. Chaque extrait végétal a été dissous dans de l'eau distillée et testé à six concentrations : 40, 20, 10, 5, 2,5 et 1,25 mg/mL. Pour chaque réaction, 1,0 mL de solution de BSA a été transféré dans le tube à essai, puis un volume mesuré de solution d'extrait végétal correspondant à la concentration souhaitée a été ajouté. Le volume total a été ajusté à 2,5 mL avec de l'eau distillée. Les témoins négatifs étaient constitués de BSA et d'eau distillée sans extrait, tandis que les témoins positifs ont été préparés en remplaçant l'extrait par de l'aspirine à des concentrations équivalentes, servant de référence standard. Tous les tubes ont été incubés à 37 °C pendant 15 minutes, puis soumis à une dénaturation thermique par chauffage à 55 °C pendant 10 minutes au bain-marie. Les échantillons ont ensuite été refroidis à température ambiante pendant 20 minutes. La turbidité, qui reflète l'ampleur de la dénaturation protéique, a été mesurée par enregistrement de l'absorbance à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Une valeur d'absorbance plus faible indiquait une inhibition plus importante de la dénaturation protéique, reflétant l'effet protecteur de l'échantillon contre l'agrégation protéique induite par la chaleur (**Bailey-Shaw et al.,2017**). Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé à l'aide de la formule

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Absorbance du témoin} - \text{Absorbance de l'échantillon}) / (\text{Absorbance du témoin}) \times 100$$

Où:

Absorbance du témoin = témoin négatif (pas de PN1, PN2)

Absorbance de l'échantillon = valeur de l'extrait végétal ou des échantillons traités.

CHAPITRE II

Résultats



***CONCLUSION ET
PERSPECTIVE***

Conclusion et perspectives :

Les développements actuels des méthodes de synthèse des nanoparticules vert forment un champ d'investigation de plus en plus intéressant et actif.

Dans le cadre des approches vertes et durables en nanotechnologie, notre travail s'est focalisé sur la synthèse de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) en utilisant un extrait issu d'une plante médicinale locale. Cette méthode de biosynthèse, souvent qualifiée de "synthèse verte", repose sur les propriétés réductrices et stabilisatrices des composés phytochimiques présents dans l'extrait végétal, tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les alcaloïdes. Ce procédé écologique permet de produire des nanoparticules sans recours à des agents chimiques toxiques, tout en valorisant les ressources naturelles. Les ZnO NPs obtenues ont ensuite été soumises à une calcination contrôlée afin d'améliorer leurs propriétés physico-chimiques, en vue d'évaluer leur potentiel biologique, notamment leurs effets antibiofilm et anti-inflammatoire.

La caractérisation structurale des nanoparticules de ZnO synthétisées a été réalisée par diffraction des rayons X (DRX). Le diffractogramme obtenu a révélé des pics intenses et bien définis, caractéristiques de la structure cristalline hexagonale du ZnO, confirmant ainsi la nature cristalline des nanoparticules. L'analyse des largeurs à mi-hauteur des pics à l'aide de la formule de Scherrer a permis d'estimer la taille moyenne des cristallites, qui varie entre 25,39 et 25,99 nm selon les conditions de calcination. Ces résultats confirment la synthèse réussie de nanoparticules à l'échelle nanométrique avec une taille homogène.

L'activité antibiofilm de ces nanoparticules a été évaluée contre quatre souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) ont montré une inhibition significative de la formation de biofilm pour l'ensemble des souches testées, attestant de leur potentiel antibactérien efficace. Elles ont également révélé une efficacité anti-inflammatoire notable, confirmée par un fort pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique. Par ailleurs, l'association des ZnO NPs synthétisées avec un antibiotique a entraîné une amélioration marquée de leurs activités antibactérienne et anti-inflammatoire.

L'activité anti-inflammatoire des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) synthétisées a été évaluée par le test d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine sérique bovine (BSA). Ce test repose sur la capacité d'un composé à protéger les protéines contre les altérations structurelles induites par la chaleur, phénomène couramment associé aux processus inflammatoires. Les résultats obtenus ont révélé que les ZnO NPs possèdent un pouvoir inhibiteur significatif, avec un pourcentage d'inhibition élevé, suggérant leur capacité

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

à stabiliser la structure des protéines face au stress thermique. L'efficacité accrue de ces nanoparticules peut être attribuée à leur taille nanométrique, favorisant une interaction optimale avec les protéines cibles et un meilleur potentiel thérapeutique, ces résultats suggèrent leur potentiel en tant qu'agents thérapeutiques naturels alternatifs.

À la lumière de ces résultats prometteurs, plusieurs perspectives de recherche peuvent être envisagées afin de valoriser pleinement le potentiel thérapeutique des nanoparticules de ZnO. :

- Évaluer l'effet anti-inflammatoire in vivo sur des modèles animaux afin de confirmer les résultats in vitro.
- Étudier la toxicité et la biocompatibilité des ZnO NPs sur les cellules humaines pour garantir leur sécurité d'utilisation.
- Développer des formulations topiques ou orales à base de ZnO NPs pour une application clinique ciblée



REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abdelghafar, A. A., Yousef, N. S., & Askoura, M. (2022).** Zinc oxide nanoparticles reduce biofilm formation, synergize antibiotics action and attenuate *Staphylococcus aureus* virulence in host; an important message to clinicians. *BMC Microbiology*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02658-z>
- **Abdullah, JAA, Eddine, LS, Abderrhmane, B., Alonso-González, M., Guerrero, A., & Romero, A. (2020).** Synthèse et caractérisation écologiques de nanoparticules d'oxyde de fer par extrait de feuille de *Phoenix dactylifera* et évaluation de leur activité antioxydante. *Chimie et pharmacie durables*, 17, 100280.
- **Ahmed, N. A., & Othman, A. S. (2024).** Green fabrication of ZnO nanoparticles via spirulina platensis and its efficiency against biofilm forming pathogens. *Microbial Cell Factories*, 23(1), 92.
- **Aminov, R. I. (2010).** A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*, 1, 134. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2010.00134>
- **Angélique, S. D. (2008).** *Effets biologiques des nanoparticules manufacturées : influence de leur caractéristique*. Thèse de doctorat, AgroParisTech, France
- **Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Capanoglu, E. (2016).** Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997–1027
- **Asare, E. O., Mun, E. A., Marsili, E., & Paunov, V. N. (2022).** Nanotechnologies for control of pathogenic microbial biofilms. *Journal of Materials Chemistry B*, 10(27), 5129-5153.
- **Asare, E. O., Mun, E. A., Marsili, E., & Paunov, V. N. (2022).** Nanotechnologies for control of pathogenic microbial biofilms. *Journal of Materials Chemistry B*, 10(27), 5129-5153.
- **Ashford, J. R. (2024).** Impaired oral health: a required companion of bacterial aspiration pneumonia. *Frontiers in rehabilitation sciences*, 5, 1337920.
- **Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... & Omar, A. K. M. (2013).** Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- **Azzi, M., Mokni, S., Medila, I., Toumi, I., Hasan, GG, Laouini, SE, ... & Mena, F. (2024).** Optimisation des synergies : décryptage de l'effet de la calcination des nanoparticules de ZnO sur la puissance antibactérienne in vitro et l'efficacité photocatalytique de la céphalexine. Une étude sur la cinétique et les isothermes. *Chimie Afrique*, 7 (7), 3871-3881.
- **Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibijbijen, J., & Nassiri, L. (2016).** Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de lavande autochtones au Maroc: «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal*, 12(30), 313-333.
- **Bailey-Shaw, Y. A., Williams, L. A., Green, C. E., Rodney, S., & Smith, A. M. (2017).** In-vitro evaluation of the anti-inflammatory potential of selected jamaican plant extracts using the bovine serum albumin protein denaturation assay. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 47(1), 145-153.
- **Banoee, M., Seif, S., Esmail Nazari, Z., Jafari-Fesharaki, P., Shahverdi, H. R., Moballegh, A., Mollazadeh Moghaddam, K., & Shahverdi, A. R. (2010).** ZnO nanoparticles enhanced antibacterial activity of ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, 93(2), 557–561.
- **Barhoum A (2021) Green** ont synthétisé des nanoparticules Ag/Ag₂O à l'aide d'extraits aqueux de feuilles de *Phoenix dactylifera* L. et de leur photodégradation de colorant azoïque. *Membranes* 11(7):468
- **Bekele, B., Degefa, A., Tesgera, F., Jule, L. T., Shanmugam, R., Dwarampudi, L. P., Nagaprasad, N., & Ramasamy, K. (2021).** Green versus Chemical Precipitation Methods of

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Preparing Zinc Oxide Nanoparticles and Investigation of Antimicrobial Properties. *Journal of Nanomaterials*, 2021, 1–10.
- **Bekele, B., Degefa, A., Tesgera, F., Tesfaye Jule, L., Shanmugam, R., Dwarampudi, L. P., Nagaprasad, N., & Ramasamy, K. (2021).** Green versus Chemical Precipitation Methods of Preparing Zinc Oxide Nanoparticles and Investigation of Antimicrobial Properties. *Journal of Nanomaterials*, 2021, 1–10.
 - **Beko, G., Clausen, G., & Weschler, C. J. (2008).** Sensory pollution from bag filters, carbon filters and combinations. *Indoor air*, 18(1).
 - **Bekro , YA, Mamyrbekova , JA, Boua , BB, Bi, FT et Ehile , EE (2007).** Etude ethnobotanique et criblage phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill .) Herend . et Zarucchi (*Caesalpiniaceae*). *Sciences & nature* , 4 (2), 217-225.
 - **Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2019).** *Biochimie* (8e éd.). De Boeck Supérieur.
 - **Bhogale, A., Nair, A., Patel, N., Miotello, A., & Kothari, D. C. (2014).** Esterase activity of BSA-ZnO nanoparticle complex. 1591, 205–206.
 - **Bhunia, A. K., Samanta, P. K., Saha, S., & Kamilya, T. (2013).** ZnO nanoparticle-protein interaction: Corona formation with associated unfolding. *Applied Physics Letters*, 103(14), 143701.
 - **Boppudi, H. B., Rao, Y. S., Kuchi, C., Babu, A. R., Govinda, V., Jagadeesh, M., & Lavanya, M. (2023).** Zinc oxide nanoparticles as an efficient antioxidant, photocatalyst, and heterogeneous catalyst in C–P bond synthesis. *Results in Chemistry*
 - **Bouzar, A. (2017).** Synthèse de nanoparticules d’or et leur caractérisation par granulométrie laser [en ligne]. Mémoire de Master : Chimie Bioorganique et Thérapeutique. Tlemcen: Université de Tlemcen, 44p.
 - **Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., & Igic, R. (2008).** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food chemistry*, 111(4), 925-929.
 - **Broadhurst, R. B., & Jones, W. T. (1978).** Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(9), 788-794.
 - **Bruneton, J 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4e éd., Lavoisier, 2009.
 - **Brunton, L. L., Hilal-Dandan, R., & Knollmann, B. C. (2018).** Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 13th ed., McGraw-Hill Education.
 - **Cheyrier, V. (2012).** "Phenolic compounds: from plants to foods." *Phytochemistry Reviews*, 11(2-3), 153–177.
 - **Buchanan, B.B., Gruissem, W., & Jones, R.L. (2015).** *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* (2nd ed.). Wiley Blackwell.
 - **Cheyrier, V. (2012).** "Phenolic compounds: from plants to foods." *Phytochemistry Reviews*, 11(2-3), 153–177.
 - **Cheyrier, V. (2012).** Phenolic compounds: From plants to foods. *Phytochemistry Reviews*, 11(2–3), 153–177. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9242-8>
 - **Choi, E. J., & Ahn, W. S. (2008).** Neuroprotective effects of chronic hesperetin administration in mice. *Archives of pharmacal research*, 31, 1457-1462.
 - **Chung, Y. C., Chang C. T., Chao W. W., Lin C. F., & Chou S. T. (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 2454 – 2458
 - **Chuto G, Chaumet-Riffaud, le Groupe Oncologie de (SFMN). (2010).** Les nanoparticules. *Médecine Nucléaire* 34,370–376.
 - **Dadi, R. (2019).** *Synthèse de nanoparticules d’oxydes métalliques et leur activité antibactérienne* [Thèse de doctorat, Université Paris-Nord-Paris XIII].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Das, S., Saha, A., Mondal, D., Bhattacharya, S., Haldar, S., & Mukherjee, S. (2020).** BSA-coated ZnO nanoparticles inhibit biofilm formation in multidrug-resistant bacteria. *ACS Applied Nano Materials*, 3(2), 1640–1651. <https://doi.org/10.1021/acsanm.9b02036>
- **Dastjerdi, R., & Montazer, M. (2010).** A review on the application of inorganic nanostructured materials in the modification of textiles: Focus on anti-microbial properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79(1), 5–1
- **Davies, J., & Davies, D. (2010).** Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3), 417–433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>
- **Dilnawaz, F., & Misra, A. N. (2023).** Green Synthesis of Metallic Nanoparticles and Various Biomedical Applications (pp. 109–124).
- **Dilnawaz, F., Kalaji, M. H., & Misra, A. N. (2023).** Nanotechnology in improving photosynthesis under adverse climatic conditions: Cell to Canopy action. *Plant Nano Biology*, 4, 100035.
- **EMA (Agence européenne des médicaments)**
- **ESCOP (European Scientific Cooperative on Phytotherapy)**
- **ESCOP. Monographs on the medicinal uses of plant drugs.** European Scientific Cooperative on Phytotherapy, 2003.
- **F. Haddouchi · T.M. Chaouche · N. Halla (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie Phytothérapie DOI 10.1007/s10298-016-1086-8
- **Garg, S. S., Dubey, R., Sharma, S., Vyas, A., & Gupta, J. (2023).** Biological macromolecules-based nanoformulation in improving wound healing and bacterial biofilm-associated infection: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 247, 125636.
- **Gheffour, K., Boucherit, K., & Boucherit-Otmani, Z. (2015).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'Echinops spinosus. *Phytothérapie*, 13(5), 288-294.
- **Goutayer, M. (2008).** *Nano-émulsions pour la vectorisation d'agents thérapeutiques diagnostiques : étude de la biodistribution par imagerie de fluorescence in vivo.* Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie.
- **Govindasamy, G. A., Mydin, R. B. S. M. N., Sreekantan, S., & Harun, N. H. (2021).** Effect of calcination temperature on physicochemical and antimicrobial properties of green synthesised ZnO/C/Ca nanocomposites using *Calotropis gigantea* leaves. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 12(1), 015013.
- **Guo, H.-N., Tong, Y.-C., Wang, H.-L., Zhang, J., Li, Z.-X., Abbas, Z., Yang, T.-T., Liu, M.-Y., Chen, P.-Y., Hua, Z.-C., Yan, X.-N., Cheng, Q., Ahmat, M., Wang, J.-Y., Zhang, L.-L., Wei, X.-B., Liao, X.-D., & Zhang, R.-J. (2021).** Novel Hybrid Peptide Cathelicidin 2 (1-13)-Thymopentin (TP5) and Its Derived Peptides with Effective Antibacterial, Antibiofilm, and Anti-Adhesion Activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11681.
- **Harborne . JB, (1973) .**Méthodes phytochimiques. Guide des techniques modernes d'analyse des plantes, Chapman and Hall Ltd, Londres, 49-188
- **Hemmati, F., Salehi, R., Ghotaslou, R., Kafil, H. S., Hasani, A., Gholizadeh, P., & Rezaee, M. A. (2020).** The assessment of antibiofilm activity of chitosan-zinc oxide-gentamicin nanocomposite on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 2248-2258.
- **Holmes, E., Tang, H., Wang, Y., & Seger, C. (2006).** The assessment of plant metabolite profiles by NMR-based methodologies. *Planta Medica*, 72(09), 771-785.
- **Iravani, S. (2011).** *Green synthesis of metal nanoparticles using plants.* Green Chemistry

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Ismaili, R., Houbairi, S., Sanâa, L., Khadija, M., & Abdeslam, L. (2017).** Etude De L'Activité Antioxydante Des Huiles Essentielles De Plantes Aromatiques Et Médicinales Marocaines. *European Scientific Journal, ESJ*, 13(12), 323.
- **Jacry Cécile. (2021).** Découverte de nouvelles molécules antibiotiques et caractérisation de leurs modes d'action [Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay]. HAL. <https://theses.hal.science/tel-03710821v1>
- **Jalali, T., Ghanavati, F. K., & Osfouri, S. (2023).** Green synthesis of ZnO nanoparticles using marine brown algae (*Cystoseira*) extract comprising sol-gel, and combustion techniques based on dye-sensitized solar cells application. *International Journal of Modern Physics B*.
- **Kambale, E., Domingues, I., Zhang, W., Marotti, V., Chen, C., Hughes, K., Quetin-Leclercq, J., Memvanga, P. B., & Beloqui, A. (2023).** "Green" synthesized versus chemically synthesized zinc oxide nanoparticles: In vivo antihyperglycemic activity and pharmacokinetics. *International Journal of Pharmaceutics*, 650, 123701.
- **Kaushik, M. (2019).** Physicochemical Interactions of APTS-ZnFe₂O₄ Nanoparticles with Bovine Serum Albumin (BSA): Biomedical Applications. 5(4), 776–779.
- **Khalil, M. A., Alzaidi, T. M., Alsharbaty, M. H. M., Ali, S. S., Schagerl, M., Elhariry, H. M., & Aboshady, T. A. (2025).** Synergistic Antibacterial and Antibiofilm Effects of Clindamycin and Zinc Oxide Nanoparticles Against Pathogenic Oral *Bacillus* Species. *Pathogens*, 14(2), 138.
- **Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019).** Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908–931.
- **Kumar, Brajesh, et al. (2014)** "Green approach for fabrication and applications of zinc oxide nanoparticles." *Bioinorganic chemistry and applications* 2014.1 : 523869.
- **Kumar, D., Bhatkalkar, S. G., Sachar, S., & Ali, A. (2021).** Studies on the antiglycating potential of zinc oxide nanoparticle and its interaction with BSA. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 39(18), 6918–6925.
- **Kumar, P., Huo, P., & Liu, B. (2019).** Nanostructured zinc oxide for biomedical applications: Synthesis and characterization. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 21, 102059. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102059>
- **Lakshmipriya, T., Gopinath, S.C.B., 2021. 1** - Introduction to nanoparticles and analytical devices, in: Gopinath, S.C.B., Gang, F. (Eds.), *Nanoparticles in Analytical and Medical Devices*. Elsevier, pp. 1–29.
- **Lanone, S., & Boczkowski, J. (2010).** Les sources de nanoparticules. *Revue Française d'Allergologie*, 50(3), 211–213.
- **Laouini SE, Bouafa A, Soldatov AV, Algarni H, Tedjani ML, Ali GAM, Barhoum A (2021).** Green synthesized of Ag/Ag₂O nanoparticles using aqueous leaves extracts of phoenix dactylifera L. and their azo dye photodegradation. *Membranes* 11(7):468
- **Lévy, R., & Fischer, A. (2016).** Pharmacologie (8e éd.). Elsevier Masson
- **Lu, J., Hu, X., & Ren, L. (2022).** Biofilm control strategies in food industry: Inhibition and utilization. *Trends in Food Science & Technology*, 123, 103-113.
- **Ma, W., Zhang, Y., & Guo, J. C. (2024).** Green synthesis of ZnO NPs with long-lasting and ultra-high antimicrobial activity. *Surfaces and Interfaces*. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2024.104506>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Mahmoudi, M., et al. (2011).** "Protein-nanoparticle interactions: opportunities and challenges." *Chemical Reviews*, 111(9), 5610–5637. [<https://doi.org/10.1021/cr100440g>]
- **Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, (9), 35.
- **Malka, E., Perelshtein, I., Lipovsky, A., Shalom, Y., Naparstek, L., Perkas, N., ... Gedanken, A. (2013).** Eradication of multi-drug resistant bacteria by a novel Zn-doped CuO nanocomposite. *Small*, 9(23), 4069–4076.
- **Mehamdia, N., & Mouassa, S. (2014).** *Mécanisme de la résistance aux antibiotiques* [Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 – Guelma]. <http://dspace.univ-guelma.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1602/M570.476%20ECOLOGIE.pdf>
- **Mohammedi, I., Descloux, E., Argaud, L., Le Scanff, J., & Robert, D. (2006).** Loading dose of vancomycin in critically ill patients: 15 mg/kg is a better choice than 500 mg. *International journal of antimicrobial agents*, 27(3), 259-262.
- **Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2010).** Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Advances in Colloid and Interface Science*, 156(1–2), 1–13
- **Palanikumar, L., Balachandran, C., & Ramasamy, S. N. (2014).** Size-dependent antimicrobial response of zinc oxide nanoparticles. *IET Nanobiotechnology*, 8(2), 111–117.
- **Nwozo, O. S., Effiong, E. M., Aja, P. M., & Awuchi, C. G. (2023).** Antioxidant, phytochemical, and therapeutic properties of medicinal plants: A review. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 359-388.
- **OMS (Organisation mondiale de la santé) – Monographies sur les plantes médicinales.**
- **Opatowski, Marion . (2020).** Résistance bactérienne aux antibiotiques, apport du système national des données de santé [Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay]. HAL. <https://theses.hal.science/tel-03149679v1>
- **Organisation mondiale de la santé (OMS).** Lignes directrices pour l'évaluation de la qualité des médicaments à base de plantes, 2004.
- **Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001).** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49, 4619 – 4626.
- **Palanikumar, L., Balachandran, C., & Ramasamy, S. N. (2014).** Size-dependent antimicrobial response of zinc oxide nanoparticles. *IET Nanobiotechnology*, 8(2), 111–117.
- **Pelczar, M. J., Chan, E. C. S., & Krieg, N. R. (2008).** *Microbiologie : Concepts et applications* (2e éd.). De Boeck Supérieur.
- **Pinto, R. M., Pinto, R. M., Soares, F. A., Reis, S., Nunes, C., & Dijck, P. V. (2020).** Innovative Strategies Toward the Disassembly of the EPS Matrix in Bacterial Biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 11, 952.
- **Premanathan, M., Karthikeyan, K., Jeyasubramanian, K., & Manivannan, G. (2011).** Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive
- **Pushpalatha, C., Renuka, S., & Manjula, M. (2022).** Recent trends in zinc oxide nanoparticles for biomedical applications: A review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 67, 103060. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.103060>
- **Qian, Y., Xia, L., Wei, L., Li, D., & Jiang, W. (2021).** Artesunate inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation by reducing alpha-toxin synthesis. *Archives of microbiology*, 203(2), 707-717.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Rai, M., Deshmukh, S. D., Ingle, A. P., & Gade, A. K. (2012).** Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 112(5), 841–852.
- **Rais, T., & Hasson, S. O. (2022).** Fabrication of green synthesis zinc nanoparticles using (pomegranate), antibacterial and antibiofilm evaluation against human and animals MDR E.coli. *International Journal of Health Sciences (IJHS)*, 1931–1943.
- **Sadikalay, s yndia. (2018).** Antibiotic resistance: mechanisms and prevention. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(06), 141–145.
- **Sajal, H., Sivamani, Y., Chennakadan, N. J., Kakkanattu, Y. K. M., & Elayaperumal, S. (2023).** Reprogramming the metabolomics of biofilms. In *Microbial Biofilms* (pp. 253-266). Academic Press.
- **Sajal, H., Sivamani, Y., Chennakadan, N. J., Kakkanattu, Y. K. M., & Elayaperumal, S. (2023).** Reprogramming the metabolomics of biofilms. In *Microbial Biofilms* (pp. 253-266). Academic Press.
- **Sakthivel, N. (2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Advances in Colloid and Interface Science*, 156(1-2), 1–13**
- **Rasmussen, J. W., Martinez, E., Louka, P., & Wingett, D. G. (2010).** Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7(9), 1063–1073.
- **Silva, A. R., Campos de Menezes, P. F., Martinello, T., Novakovich, G. F. L., Praes, C. E. O., & Feferman, I. H. S. (2010).** Antioxidant kinetics of plant-derived substances and extracts. *International Journal of Cosmetic Science*, 32(1), 73–80.
- **Singh, R., Smitha, M. S., & Reddy, M. R. (2020).** Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to combat antibiotic resistance: A review. *Biotechnology Reports*, 28, e00575.
- **Singh, A, Jain. D, Upadhyay. M. K, Khandelwal. N, Verma. H. N, (2010).** « Green synthesis of silver nanoparticles using Argemone mexicana leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities » *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 5, PP 483–489.
- **Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., Hasan, H., & Mohamad, D. (2015).** Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7(3), 219–242. <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>
- **Slinkard, Karen, and Vernon L. Singleton. (1977)** "Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods." *American journal of enology and viticulture* 28.1 : 49-55.
- **Sofowara A. (1989).** *Plantes médicinales et médecine traditionnelle en Afrique*, Spectrum Books Ltd, Ibadan, Nigéria, 1993, 191-289.
- **Talantikit, M. (2014).** *Effet antibactérien des nanoparticules de cuivre, oxyde de cuivre et oxyde de fer* [Mémoire de Master, Université de Montréal]. https://publications.polymtl.ca/1608/1/2014_MyriamTalantikit.pdf
- **Trease, G.E. and W.C. Evans, 1989.** *Pharmacognosy*. 2nd Edn, Braille Tiridel and Macmillan publishers.
- **Ullah, H., Ali, M., Ma, R., Alioui, Y., Ali, S., Ilyas, M., Rahman, M. U., Farooqui, N. A., Siddiqui, N. Z., & Xin, Y. (2024).** Polysaccharides derived from Deglet Noor dates modulate amoxicillin-induced dysbiosis and enhance intestinal barrier function. *Journal of Functional Foods*, 120, 106350.
- **Untea, A., Lupu, A., Saracila, M., & Panaite, T. D. (2018).** Comparison of ABTS, DPPH, Phosphomolybdenum Assays for Estimating Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Five Different Plant Extracts. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies*,

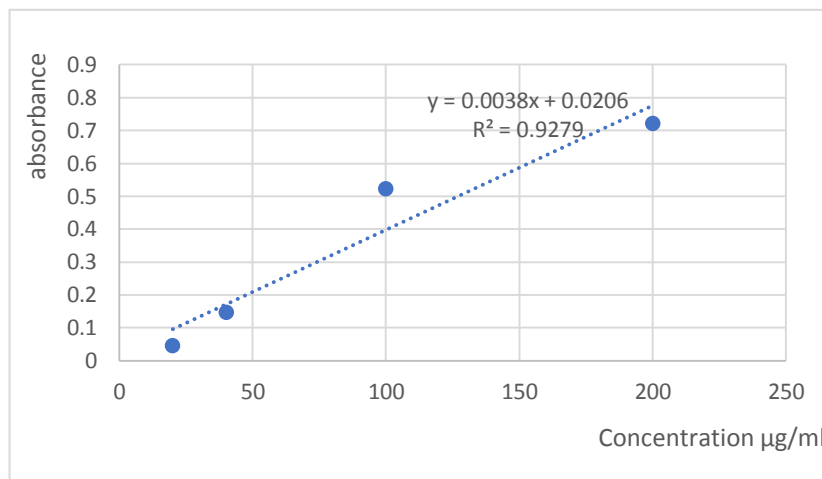
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., ... & Laxminarayan, R. (2015).** Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(18), 5649–5654.
- **Ventola, C. L. (2015).** The antibiotic resistance crisis: Part 1: Causes and threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4), 277–283.
- **Vlasaku, I., & Tomovska, J. (2024).** Determination of antioxidant activity in milk extracts with phosphomolibdate method. *South Florida Journal of Development*, 5(11), e4614.
- **Vogt, Thomas. (2010).** **Phenylpropanoid biosynthesis.** *Molecular Plant*, 3(1), 2–20. <https://doi.org/10.1093/mp/ssp106>
- **Wang, C., Dong, D., Zhang, L., Ziwei, S., Hua, X., & Guo, Z. (2019).** Response of Freshwater Biofilms to Antibiotic Florfenicol and Ofloxacin Stress: Role of Extracellular Polymeric Substances. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(5), 715. P
- **Wink, M. (2010).** *Functions and biotechnology of plant secondary metabolites*. 2nd ed., Wiley-Blackwell.
- **World Health Organization. (2015).** Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. Geneva: WHO
- **Zhou, L., Wang, J., Li, D., & Ma, J. (2021).** Recent advances in biosensors for the detection of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria. *Biosensors and Bioelectronics*, 173,

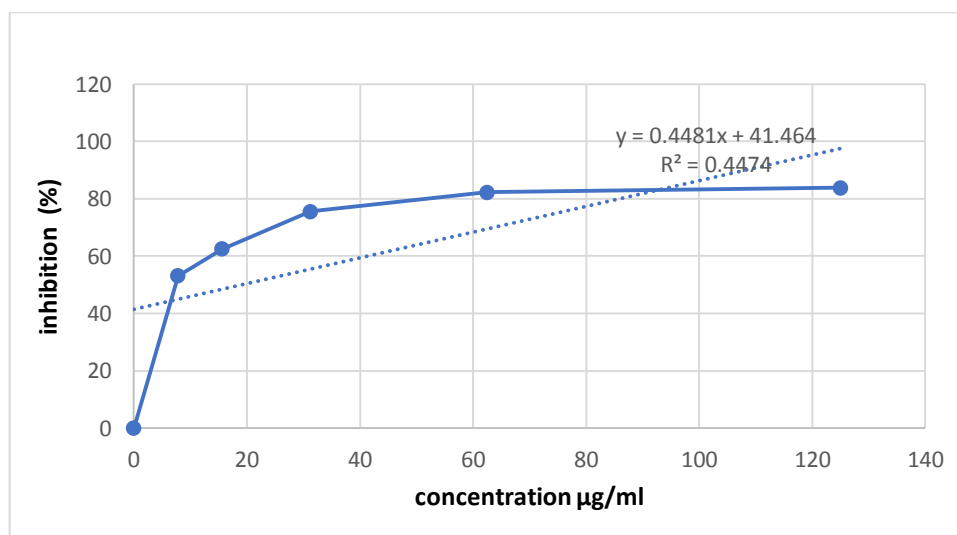


ANNEXES

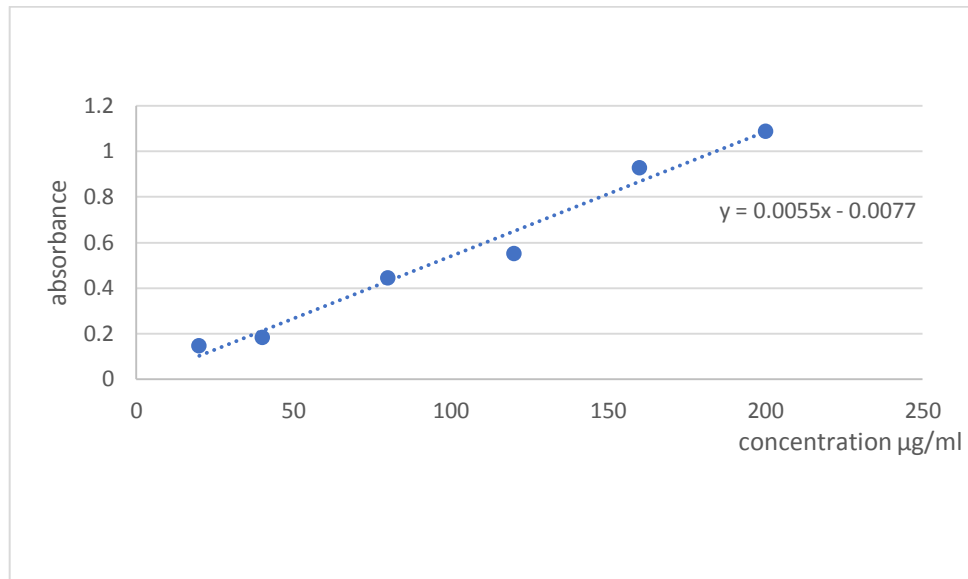
Annexe 1 : courbe d'étalonnage d'acide gallique méthode phosphomolybdène



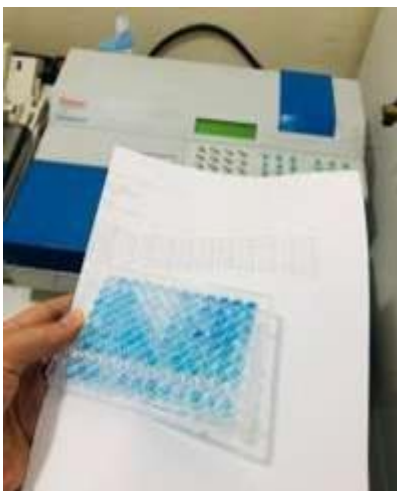
Annexe 2 : courbe d'inhibition d'acide gallique de test de DPPH



Annexe 3 : pouvoir antioxydant de réduction du fer d'Acide ascorbique



Annexe 4 : test de l'activité anti biofilm (photos personnelles)



Annexe 5 : test anti-inflammatoire (inhibition de la dénaturation de BSA) (photos personnelles)

